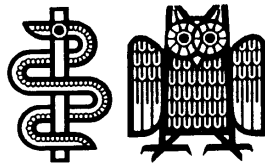


**Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar**
Direktor: Prof. Dr. med. T. Vogt



**Einfluss unterschiedlicher UV-Bestrahlungssysteme
auf den 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel
und andere Gesundheitsparameter**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES**
2013

**vorgelegt von
Annett Katja Weinhold
geboren am 01.11.1982 in Erlabrunn**

**Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität des Saarlandes am:**

**Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs
Humanmedizin der Universität des Saarlandes:**

Dekan:

Berichterstatter:

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Deutsche Zusammenfassung

Englische Zusammenfassung

1	Einleitung.....	1
1.1.1	Einführung in die Fragestellung.....	1
1.1.2	Fragestellung dieser Dissertation.....	2
1.2	Vitamin D: chemische Struktur und Eigenschaften	2
1.3	Vitamin D-Stoffwechsel des Menschen.....	3
1.3.1	Synthese von Vitamin D in der Haut	3
1.3.2	Regulation der Vitamin D-Synthese in der Haut.....	5
1.3.3	Nutritive Vitamin D-Aufnahme	6
1.3.4	Hepatische Hydroxylierung von Vitamin D zu 25(OH)D ₃	6
1.3.5	Renale Hydroxylierung von 25(OH)D ₃ zu 1,25(OH) ₂ D ₃	6
1.3.6	Transport und Speicherung der Vitamin D-Metabolite	8
1.3.7	Extrarenale, lokale Produktion von 1,25(OH) ₂ D ₃	9
1.3.8	Abbau von 25(OH)D ₃ und 1,25(OH) ₂ D ₃	10
1.4	Endokrine Wirkung des 1,25(OH) ₂ D ₃ im Kalziumstoffwechsel	10
1.4.1	Wirkung von 1,25(OH) ₂ D ₃ an der Nebenschilddrüse	11
1.4.2	Wirkung von 1,25(OH) ₂ D ₃ an der Niere	12
1.4.3	Wirkung von 1,25(OH) ₂ D ₃ im Darm	12
1.4.4	Wirkung von 1,25(OH) ₂ D ₃ am Knochen	13
1.5	Genomische und nicht-genomische Wirkungen von 1,25(OH) ₂ D ₃	14
1.6	Vitamin D-Rezeptor (VDR)	15
1.7	Das Vitamin D-bindende Protein (VDBP).....	17
1.7.1	Struktur des VDBP	18
1.7.2	Polymorphismen (SNP) des VDBP	19
1.7.3	Zusammenhang zwischen VDBP-Polymorphismen und Vitamin D-Serumspiegel	20
1.7.4	Funktion des VDBP	22
1.7.5	VDBP-Polymorphismen und Erkrankungen	23
1.8	Stoffwechselvorgänge die durch Vitamin D beeinflusst werden.....	24
1.8.1	Zellwachstum, Carcinogenese und Angiogenese	25
1.8.2	Maligne Erkrankungen	26
1.8.3	Immunmodulation	27
1.8.4	Insulin-Ausschüttung und Diabetes Mellitus	28
1.8.5	Knochenabbau, Osteoporose-Risiko und Fallneigung	29
1.8.6	Fettstoffwechsel.....	29

1.8.7	Reninsynthese und Blutdruckregulation	29
1.8.8	Muskulatur, Herz-Kreislaufferkrankungen und kardiovaskuläres Risiko	30
1.9	Vitamin D-Mangel: Definition und Prävalenz	30
1.10	Vitamin D-Mangel: Ursachen.....	31
1.11	Vitamin D-Substitution.....	33
1.11.1	Orale Vitamin D-Substitution	33
1.11.2	Vitamin D-Substitution via UV-Strahlung.....	34
1.12	Unterschiedliche UV-Bestrahlungssysteme.....	36
2	Material und Methoden	38
2.1	Patientenkollektiv	38
2.2	Ethikkommission.....	38
2.2.1	Patientenfragebogen	38
2.2.2	Klinische Scores	39
2.2.3	Blutdruck- und Gewichtsmessung	39
2.2.4	UV-Therapie.....	39
2.3	Genotypisierung der Polymorphismen.....	40
2.3.1	DNA-Isolation	40
2.3.2	DNA-Konzentrationsmessung und Verdünnung.....	41
2.3.3	Genotypisierung mit TaqMan-SNP-Assays	42
2.3.4	Durchführung	43
2.3.5	Untersuchte Polymorphismen im VDR, VDBP und CYP2R1	45
2.4	Analyse der Laborparameter.....	49
2.4.1	Serumspiegel von 25(OH)D ₃	49
2.4.2	HbA _{1c}	50
2.4.3	C-reaktiven Protein (CRP).....	50
2.4.4	Gesamt-Cholesterin	51
2.4.5	HDL-Cholesterin (High density Lipoprotein).....	51
2.4.6	LDL-Cholesterin (Low density Lipoprotein).....	51
2.4.7	Triglyceride	51
2.5	Geräte und Materialien	52
2.5.1	Geräte	52
2.5.2	Materialien.....	52
3	Ergebnisse.....	54
3.1	Patientenkollektiv	54
3.2	Vitamin D-Mangel-Prävalenz innerhalb der untersuchten Population	55
3.3	Einfluss individueller Faktoren und Verhaltensweisen auf den Baseline-25(OH)D ₃ -Serumspiegel	55

3.3.1	Grunderkrankung.....	55
3.3.2	Geschlecht	56
3.3.3	Alter.....	57
3.3.4	Hauttyp	57
3.3.5	BMI	58
3.3.6	Fischverzehr	59
3.3.7	Solarium / Sonnenstudio.....	59
3.3.8	Sonnencreme-Gebrauch.....	60
3.3.9	Polymorphismen im Vitamin D-System (VDR, VDBP, CYP2R1) und Baseline-25(OH)D ₃ -Serumspiegel.....	62
3.4	Veränderungen im 25(OH)D ₃ -Serumspiegel unter nUVB- und PUVA-Therapie.....	65
3.5	Baseline-25(OH)D ₃ -Serumspiegel und der 25(OH)D ₃ -Anstieg unter nUVB-Therapie	67
3.6	Verhalten von Blutdruck, CRP, HbA _{1c} , Cholesterin und Triglyceride unter UV-Therapie...	68
3.7	Einfluss des 25(OH)D ₃ -Serumspiegel auf das Frakturrisiko	71
3.8	Polymorphismen im Vitamin D-System (VDR, VDBP, CYP2R1) und deren Prävalenz in dermatologischen Patienten sowie der gesunden Kontrollgruppe	72
4	Diskussion.....	76
4.1	Wie hoch ist die Vitamin D-Mangel-Prävalenz im untersuchten Patientenkollektiv?.....	76
4.2	Haben individuelle Faktoren (Alter, Hauttyp, Geschlecht, BMI und dermatologische Grunderkrankung) einen Einfluss auf die Baseline-25(OH)D ₃ -Serumkonzentration?	76
4.3	Haben persönliche Verhaltensweisen (Solarium-Besuche, Sonnencreme-Gebrauch und Ernährung) einen Einfluss auf die Baseline-25(OH)D ₃ -Serumkonzentration?	79
4.4	Determinieren SNP im Vitamin D-System die Baseline-25(OH)D ₃ -Serumkonzentration? ..	80
4.5	Wie verhält sich der 25(OH)D ₃ -Serumspiegel unter nUVB- und PUVA-Therapie?.....	81
4.6	Beeinflusst die Baseline-25(OH)D ₃ -Serumkonzentration den Anstieg der 25(OH)D ₃ -Serumspiegel?	82
4.7	Zeigt die nUVB-Therapie einen positiven Einfluss auf ausgewählte Laborparameter (CRP, HbA _{1c} , Cholesterin, HDL, LDL) oder Blutdruckwerte?	83
4.8	Besteht innerhalb des Patientenkollektivs ein Zusammenhang zwischen niedrigen Baseline-25(OH)D ₃ -Serumkonzentrationen und Vitamin D-Mangel-Erkrankungen?	84
4.9	Zeigen die untersuchter Polymorphismen (VDR, VDBP, CYP2R1) Unterschiede in der Genotypen-Prävalenz zwischen dermatologischen Patienten und der Kontrollgruppe?.....	85
4.10	Zusammenfassung und Interpretation der wichtigsten Ergebnisse.....	86
4.11	Limitationen der Studie	88
4.12	Aussichten für weiterführende Untersuchungen	89
5	Literaturverzeichnis	90
6	Anhang.....	102

6.1	Patienten-Information und Einverständniserklärung.....	102
6.2	Datenschutzerklärung	103
6.3	Patientenfragebogen	104
7	Danksagung	109

Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	analysis of variance (Varianzanalyse)
ATP	Adenosin-Tri-Phosphat
BIAS	Statistik: Verzerrung/ systematischer Fehler
bUVB	Broadband / Breitspektrum UVB-Therapie
BMI	Body-Mass-Index
bzw.	beziehungsweise
Ca ²⁺	Kalzium
CSF	Colony stimulating Faktor
CRP	C-reaktives Protein
CYP2R1	ein mikrosomales Enzym der P450 Gruppe mit Vitamin D-25-Hydroxylase Aktivität
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FAM	6-FAM-Phosphoramidit, Reporter-Farbstoff
FBF	Fibroblasten-Wachstums-Faktor
Gc-MAF	Vitamin D-bindendes Protein-Makrophagen-aktivierenden-Faktor (= VDBP-MAF)
HbA _{1c}	Langzeitblutzucker-Wert (glykylierten Hämoglobin)
HDL	High-Density Lipoprotein
IDVP	intrazelluläres Vitamin D-bindendes Protein
IL	Interleukin
IGF	Insulin-like-growth-Faktor
IU	Internationale Einheit/Unit
kDa	Kilodalton
KHK	Koronare Herzerkrankung
LBD	Liganden-Bindungs-Domäne
LDL	Low-Density-Lipoprotein
MAARS	1,α,25-dihydroxy-membrane assoziiated rapid response steroid binding
MAF	Makrophagen-aktivierender-Faktor
nUVB	Narrow band /Breitspektrum UVB-Therapie
25(OH)ase	Vitamin D 25-Hydroxylase
OPG	Osteroprotegerin
PCR	Polymerasekettenreaktion
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
PASI	Psoriasis area and severity Index
RANK	receptor activator of nuclear factor
RANKL	receptor activator of nuclear factor (NF)-κB ligand
SNP	single Nukleotide Polymorphismus

TGF	Transforming Growth-Faktor
TRPV5/6	TRPV = transient receptor potential/Vanillin VEGF (= epithelialer Kalziumkanal)
UVA	Ultraviolettes Licht mit einer Wellenlänge von 315 - 400 nm
UVB	Ultraviolettes Licht mit einer Wellenlänge von 280 - 315 nm
VDBP	Vitamin D-bindendes Protein
VDR	Vitamin D-Rezeptor
VDRE	Vitamin D-responsive/empfindliches Element
VEGF	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor
VIC	grüner Reporterfarbstoff
1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxyvitamin D
25(OH)D ₃	25-Hydroxyvitamin D
24(OH)ase	24-Hydroxylase
7-DHC	7-Dehydrocholesterol

ZUSAMMENFASSUNG

Deutsche Zusammenfassung

Der Vitamin D-Mangel ist weltweit verbreitet. Allein in Deutschland sind laut aktueller Studienlage mehr als die Hälfte der Bevölkerung ungenügend mit Vitamin D versorgt. In den letzten Jahren häufen sich Publikationen die belegen, dass Vitamin D, neben der Regulation des Kochen- und Kalziumstoffwechsels, an vielen anderen Vorgängen im Organismus beteiligt ist. Assoziationen zwischen zahlreichen unterschiedlichen Erkrankungen, (darunter kardio-vaskuläre oder maligne Erkrankungen, Infektions- und Autoimmunerkrankungen) und einem Vitamin D-Defizit werden immer häufiger beschrieben.

Unter unseren Lebensbedingungen müssen ca. 90 % des vom Körper benötigten Vitamin D in der Haut unter UV-B-Einfluss synthetisiert werden. Ziel der vorliegenden prospektiven, klinisch-experimentellen Pilotstudie waren Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher UV-Bestrahlungssysteme auf den 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel und andere Gesundheitsparameter. Dermatologische Patienten (n = 57) wurden dazu mittels Fragebogen zu persönlichen Faktoren (Geschlecht, BMI, Alter, Hauttyp), Sonnenverhalten, Ernährungsgewohnheiten und Krankheitsgeschichte befragt. Die 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel wurden vor, sowie nach einer und zwei Wochen UV-Therapie bestimmt. Vor Beginn der Phototherapie zeigten 85,4 % der untersuchten Patienten einen 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel unter 20 ng/ml. Dieser Prozentsatz liegt höher im Vergleich zu publizierten Daten der gesamtdeutschen Bevölkerung (57 – 58 %). Wie in der Literatur beschrieben, zeigten auch in unserem Untersuchungskollektiv junge und schlanke Patienten, sowie Patienten mit regelmäßigen Solarium-Besuchen, tendenziell höhere 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel verglichen mit älteren, adipösen Patienten und Probanden die angaben, nie ein Solarium besucht zu haben. Probanden, die anamnestisch von einer osteoporotischen Fraktur berichteten, zeigten nicht signifikant, niedrigere 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel (6,0 ng/ml) im Vergleich zu Patienten die keine oder eine andere Fraktur erlitten hatten (13,3 ng/ml) ($p = 0,209$). Geschlecht, Hauttyp, dermatologische Grunderkrankung, oder der Verzehr von Fisch verzeichneten keinen wegweisenden Einfluss auf den Baseline-25-Hydroxyvitamin D-Spiegel. Patienten, die regelmäßigen Gebrauch von Sonnencreme erwähnten, zeigten tendenziell höhere 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel vgl. mit Patienten die angaben, gelegentlich oder nie einen Sonnenschutz zu verwenden ($p = 0,052$), möglicherweise ist der Gebrauch von Sonnenschutzmittel ein Indikator für regelmäßige UV-Exposition.

Nach zwei Wochen UVB-Schmalspektrum-Therapie (311 nm) zeigte sich im untersuchten Kollektiv ein signifikanter Anstieg des 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegels (Median: von 11,4 ng/ml auf 20,15 ng/ml, $p < 0,001$). In der PUVA-Kontrollgruppe waren während dieser Zeitspanne keine wesentlichen Veränderungen im 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel zu verzeichnen. Als maßgeblichen Einflussfaktor auf die Höhe des 25-Hydroxyvitamin D-Anstiegs unter Phototherapie konnten wir den

Baseline-25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel identifizieren, hierbei ergab sich eine signifikant negative Korrelation zwischen beiden Parametern ($p = 0,001$, $r = -0,835$).

Unter UVB-Schmalspektrum-Therapie fanden wir keine wesentlichen Effekte auf Blutdruckwerte oder verschiedene Laborparameter (CRP, HbA_{1c}, Cholesterin, Triglyceride, HDL, LDL). Dies ist möglicherweise durch den relativ kurzen Untersuchungszeitraum bedingt.

Ein weiteres Ziel der Arbeit bestand darin, genetische Ursachen des Vitamin D-Mangels zu erforschen. Hierfür wurden insgesamt zehn Polymorphismen in drei Genen des Vitamin D-Systems (Vitamin D-Rezeptor, Vitamin D-bindendes Protein und 25-Hydroxylase CYP2R1) auf Korrelationen mit den Baseline-25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel untersucht. Drei Polymorphismen im Vitamin D-bindendem Protein wiesen einen signifikanten Einfluss auf den Baseline-25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel auf (rs4588, $p = 0,028$; rs1155563, $p = 0,040$ und rs2282679, $p = 0,049$). Abschließend untersuchten wir die zehn Polymorphismen auf ihre Assoziation mit dermatologischen Erkrankungen. Um die Allel-Verteilung innerhalb der Normalbevölkerung zu repräsentieren, wurden DNA-Proben von 384 gesunden Probanden (192 weibliche und 192 männliche) genotypisiert. Vier Polymorphismen im Vitamin D-Rezeptor (rs7975232, rs731236, 2107301, 11574143) und zwei im Vitamin D-bindenden Protein (rs4588, rs7041) wiesen signifikante Differenzen der Allel-Prävalenz zwischen Patienten- und Kontrollgruppe auf ($p < 0,001 - 0,039$).

Zusammenfassend konnten in der vorliegenden Pilotstudie neben entscheidenden Ergebnissen bezüglich Prävalenz und Bedeutung des Vitamin D-Mangels, auch interessante neue Erkenntnisse zur UVB-vermittelten kutanen Vitamin D-Synthese gewonnen werden, welche die Grundlage für zukünftige, umfassendere Untersuchungen darstellen.

Englische Zusammenfassung

Vitamin D-deficiency is common worldwide. Recent studies have shown that approximately 50 % of the German population are not receiving sufficient vitamin D. Beside the classical role of vitamin D in bone and calcium metabolism, several recent publications have reported that vitamin D is involved in many biological processes and disease conditions. For example, vitamin D deficiency was associated with cardiovascular diseases, cancer, risk of infections, and autoimmune diseases.

Under physiological conditions, approximately 90 % of vitamin D requirements are synthesized in the skin by means of UVB light. The aim of the current prospective clinical study was to investigate the effect of therapeutically indicated UV treatment on serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D in patients with skin lesions. Moreover we investigated any potential relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and certain polymorphisms related to vitamin D metabolism. The study included 57 patients with skin lesions who visited our clinic for UV-therapy. A standardised interview was conducted and information on lifestyle factors (age, weight, dietary habits, sun exposure) and disease history was collected. Serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D were measured before and after one and two weeks of UV therapy.

Low serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D (< 20 ng/ml) were detected in 85.4 % of the participants at baseline. The prevalence of low vitamin D in the general population in Germany is approximately 58 %. Therefore, our study on patients with skin lesions showed higher prevalence of vitamin D deficiency. Moreover, as reported in earlier studies, lean individuals, those with younger age, and those who reported regular exposure to UV (solarium) tended to have higher serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D compared to overweight, older, and those who did not reported UV exposure, respectively. Patients who reported osteoporotic fractures had lower serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D compared with those who did not reported fractures, even if not significant (mean 6.0 vs. 13.3 ng/ml; $p = 0.209$). In contrast, sex, skin type, skin lesion, or dietary intake of fish showed no association with serum 25-hydroxyvitamin D at baseline. Patients who reported regular usage of sunscreen tended to have higher 25-hydroxyvitamin D concentrations compared with patients who did not regularly used suncreams ($p = 0.052$). This was probably related to a higher exposure to sun, not by sun cream.

Median serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D showed a significant increase (median 25-hydroxyvitamin D changed from 11.4 to 20.15 ng/ml; $p < 0.001$) in patients after two weeks of UVB narrowband- (wave length 311 nm) therapy. In contrast, the concentrations of 25-hydroxyvitamin D showed no significant change two weeks after treatment with UVA. Baseline concentration of 25-hydroxyvitamin D was the most important predictive factor for the increase in 25-hydroxyvitamin D concentrations after UVB therapy. Baseline concentrations of 25-hydroxyvitamin D were negatively correlated with the increase in vitamin D after therapy (spearman correlation $r = -0.835$, $p = 0.001$),

meaning that patients with lowest levels showed the highest increase in 25-hydroxyvitamin D. The treatment with narrowband-UVB had no influence on other measured outcomes like blood pressure, plasma lipids, CRP, or HbA_{1c}, probably because of the short follow-up duration.

We further tested 10 polymorphisms in vitamin D receptor, vitamin D binding protein, and 25hydroxylase CYP2R1 and looked at potential association with baseline 25-hydroxyvitamin D concentrations. Three polymorphisms in vitamin D-binding protein (rs4588, rs1155563, rs2282679) showed a significant effect on concentrations of 25-hydroxyvitamin D in serum (all $p < 0.05$). Finally, we tested a potential association of certain genotypes with skin diseases. For this purpose, we first established the prevalence of the genotype in a random population sample of 384 participants (50 % men). The allele prevalence of four polymorphisms in vitamin D-receptor (rs7975232, rs731236, rs2107301, rs11574143) and two polymorphisms in vitamin D-binding protein (rs4588, rs7041) showed significant differences between patients with dermatologic lesions and the population sample ($p < 0.05$), suggesting an effect of the polymorphisms of an interaction with vitamin D in the aetiology of dermatologic diseases.

Taken together, the current study has shown that UVB-treatment increases serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D. Moreover, a distinct prevalence of polymorphisms in vitamin D receptor and vitamin D-binding protein in patients with dermatologic diseases strongly suggests a genetic predisposition or a gene-nutrient interaction in term of disease prevention or predisposition. Future studies may investigate these potential genetic and modifiable factors.

1 Einleitung

1.1.1 Einführung in die Fragestellung

Der aktive Vitamin D-Metabolit 1,25-Dihydroxyvitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) ist ein seco-Steroidhormon. Seine Vorläufermoleküle, das so genannte Vitamin D und Prävitamin D werden in der Haut unter Einfluss von ultravioletter Strahlung (UVB) gebildet und ins Blut abgegeben. In der Leber produziertes 25-Hydroxyvitamin D ($25(\text{OH})\text{D}_3$) ist die primäre Speicher- und Transportform des Vitamin D im menschlichen Körper. Erniedrigte $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Serumspiegel gelten als Indikator für einen Vitamin D-Mangel.

Seit langem ist bekannt, dass Vitamin D den Knochen- und Kalziumstoffwechsel reguliert. Aktuelle Studien belegen jedoch, dass Vitamin D-Mangel mit zahlreichen Erkrankungen wie Osteoporose, Osteomalazie, diversen Malignomen wie Kolon-, Prostata- und Mammakarzinom, Autoimmunerkrankungen u.a. Multiple Sklerose, Morbus Basedow und Diabetes mellitus Typ1, aber auch Herz-Kreislauferkrankungen assoziiert ist (Holick, 2004, Dusso et al., 2005, Garland et al., 2006a, Giovannucci, 2006a, Holick, 2008). In diversen Studien wurde weiterhin aufgezeigt, dass ein Vitamin D-Mangel verschiedene Gesundheitsparameter, wie Blutdruck, Entzündungswerte, Blutzucker- und Cholesterinspiegel ungünstig beeinflusst (Holick, 2007b, Osmancevic et al., 2009).

Der Vitamin D-Mangel ist heutzutage ein weit verbreitetes Problem, insbesondere in den westlichen Industrieländern. Es wird angenommen, dass weltweit insgesamt 1 Milliarde Menschen ungenügend mit Vitamin D versorgt ist und an einem Vitamin D-Mangel leidet (Holick, 2007b). Allein in Deutschland sind 57 % der Männer und 58 % der Frauen ungenügend mit Vitamin D versorgt. In einem Kollektiv mit 65 - 79 jährigen Frauen lag der Prozentsatz mit 75 % noch wesentlich höher (Hintzpeter et al., 2008a). Untersuchungen zur kutanen Vitamin D-Synthese sind daher von großer gesundheitsökonomischer Relevanz.

In der Literatur ist gut belegt, dass der $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Serumspiegel nach UVB-Bestrahlung ansteigt (Osmancevic et al., 2009, Bogh, 2012). Der Einfluss individueller Faktoren, wie Alter, Hauttyp, Geschlecht, BMI sowie der verabreichten Strahlungsdosis und genetische Varianten (Polymorphismen, SNPs) des Vitamin D-Systems auf den $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Serumspiegel ist bislang nur unzureichend untersucht. Welche konstitutionellen und genetischen Faktoren den $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Serumspiegel und dessen Dynamik nach UV-Bestrahlung beeinflussen, sowie die daraus resultierenden gesundheitlichen Konsequenzen, sind Ziel und Fragestellung dieser Arbeit.

Für diese Untersuchungen wurden 36 Patienten (Psoriasis vulgaris, atopische Dermatitis und andere Dermatosen) auserwählt, welche eine UVB-Schmalspektrum-Therapie (nUVB) erhielten. Um die Wahrscheinlichkeit einer statistischen Verzerrung oder eines systematischen Messfehlers (BIAS) zu

minimieren, wurde eine zusätzliche PUVA-Kontrollgruppe mit 21 Patienten einbezogen. Anhand der ausgewerteten Patientenfragebögen, Labor- und Gesundheitsparameter sowie Polymorphismus-Studien sollen folgende Fragestellungen beantwortet werden.

1.1.2 Fragestellung dieser Dissertation

Die Fragestellungen dieser Studie lassen sich in den folgenden Punkten zusammenfassen:

Hauptfragestellung:

1. Wie hoch ist die Vitamin D-Mangel Prävalenz im untersuchten Kollektiv?
2. Beeinflussen individuelle, persönliche Voraussetzungen sowie Umweltfaktoren den 25(OH)D₃-Serumspiegel?
3. Welchen Einfluss hat die nUVB-Therapie auf den 25(OH)D₃-Serumspiegel?

Weitere Fragestellungen:

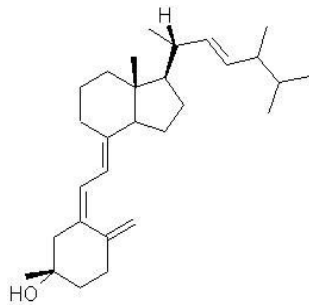
1. Ist der 25(OH)D₃-Serumspiegel mit Biomarkern (CRP, HbA_{1c}, Cholesterin, Triglyceride, HDL, LDL) oder Vitamin D-Mangelerkrankungen assoziiert?
2. Zeigen Polymorphismen im Vitamin D-Rezeptor, dem Vitamin D-bindenden-Protein oder der Vitamin D 25-Hydroxylase Assoziationen mit bestimmten Hauterkrankungen?

1.2 Vitamin D: chemische Struktur und Eigenschaften

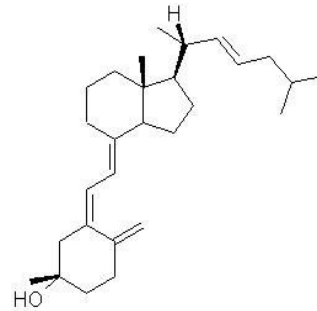
Biochemisch gehört das Vitamin D oder Calciferol zur Gruppe der Secosteroide. Aufgrund seiner chemischen Struktur, dem tetrazyklischen Grundgerüst (drei Sechseringe und ein Fünfering) mit jeweils unterschiedlichen Substituenten, ähnelt es den Steroid-Lipiden (Abb. 1). Es zeigt eine unpolare Ladung und ähnelt strukturell, den klassischen Steroidhormonen (Cortisol, Aldosteron etc.). Anhand dieser Eigenschaften erfolgt der Transport zum Zielorgan proteingebunden über den Blutweg. Die Wirkung an der Zielzelle beginnt nach Durchdringen der Zellmembran und Bindung an einen nukleären Vitamin D-Rezeptor (VDR). Der VDR ist ein Liganden-aktivierter Transkriptionsfaktor welcher, nach Bindung an die DNA, die Transkription des Zielgenes steuert und den Stoffwechsel beeinflusst. Aufgrund all dieser Eigenschaften wird Vitamin D als Hormon deklariert (Holick et al., 1980, Haussler et al., 1998).

Es gibt zwei Formen des Vitamin D, das Vitamin D₂ und D₃ (Abb. 1). Diese unterscheiden sich in der Seitenkette des Sterol-Grundgerüsts. Vitamin D₂ (Ergocalciferol) entsteht in Pflanzen aus der Vorstufe Ergosterol. Es wird durch UV-Bestrahlung gebildet und gelangt über pflanzliche Nahrung in den menschlichen Organismus. Vitamin D₃ oder Cholecalciferol ist das wichtigste unter den

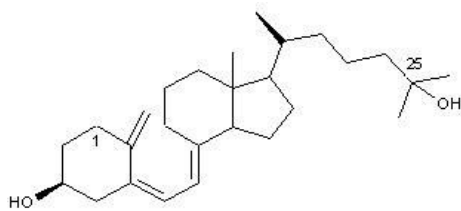
Calciferolen. Es wird entweder in der Haut aus 7-Dehydrocholesterin (7-DHC) synthetisiert, oder mit tierischer Nahrung aufgenommen und im Dünndarm resorbiert. Cholecalciferol selbst ist biologisch inaktiv und wird erst durch Hydroxylierungen in verschiedenen Organen wie Leber und Niere zum aktiven Metabolit, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ umgewandelt (Holick et al., 1980, Milde, 1991, Norman, 1998).



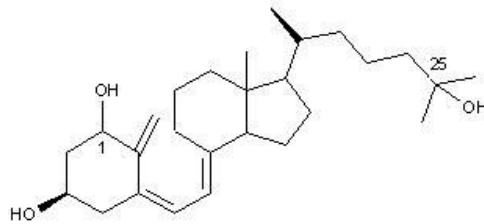
Vitamin D₂
Ergocalciferol



Vitamin D₃
Cholecalciferol



25(OH)D₃ (Calcidiol)
25-Hydroxy-Vitamin D
Hydroxycholecalciferol



1,25(OH)₂D₃ (Calcitriol)
1,25-Dihydroxy-Vitamin D
Dihydroxycholecalciferol

Abbildung 1: Strukturformeln der wichtigsten Metabolite im Vitamin D-Stoffwechsels, (School of Chemistry, University of Bristol/UK) <http://www.chm.bris.ac.uk/webprojects2002/schnepp/vitamind.html>

1.3 Vitamin D-Stoffwechsel des Menschen

1.3.1 Synthese von Vitamin D in der Haut

Unsere Nahrung enthält sehr wenig Vitamin D, abgesehen von fettigem Seefisch und Fischleberöl. Der Körper ist in der Lage, den Bedarf an Vitamin D durch endogene Synthese in der Haut zu decken. Folglich stammen 90 % der gesamten Vitamin D-Serumkonzentration aus der Haut (Holick et al., 1980, Holick, 1995). Während bzw. nach einem ausgedehntem Sonnenbad wird eine Menge von 10.000 - 20.000 IU/d Vitamin D (1IU= 25ng Vitamin D) in der Haut gebildet (Hollis, 2005, Holick et al., 2007). Die kutane Vorstufe von Vitamin D, das 7-DHC, weist im Stratum Spinosum und im Stratum basale der Epidermis die höchste Konzentration auf (~25–50 mg/cm² der Haut) (Holick, 1981, Norman, 1998). In der Leber wird 7-DHC aus Cholesterol mithilfe der Cholesteroldehydrogenase

synthetisiert. Über den Blutstrom gelangt 7-DHC wegen seiner hydrophoben Eigenschaften, an Transportproteine gebunden, zu den Keratinozyten. Innerhalb der Keratinozyten ist 7-DHC zu 80 % Bestandteil der Plasmamembran und zu 20 % im Zytosol vorzufinden (Lehmann et al., 2010). Unter Einwirkung von UV-Licht (UVB) mit einer Wellenlänge von 290 – 315 nm und einer Dosis von mindestens 18 mJ/cm^2 entsteht aus dem 7-DHC das Prävitamin D₃ (Webb et al., 1988, Matsuoka et al., 1990) (Abb. 2). Diese photochemische Reaktion ist gekennzeichnet durch den Aufbruch des B-Rings im 7-DHC zwischen Atom C9 und C10, woraus 9,10-seco-sterol-Provitamin D₃ entsteht. Das Maximum der Prävitamin D₃-Synthese erfolgt bei einer Wellenlänge von 297 nm und wird durch den 7-DHC-Gehalt der Haut limitiert (Holick et al., 1980, Matsuoka et al., 1988).

Prävitamin D₃ ist thermodynamisch instabil und isomerisiert binnen etwa 8 h (durch Verschiebung einer Doppelbindung) zum stabilen Vitamin D₃ (Holick, 1995). In Experimenten wurde gezeigt, dass bereits 2,5 h nach UV-Bestrahlung 50 % des Prävitamin D₃ in Vitamin D₃ umgewandelt wurden. Dies erklärt den schnellen Anstieg der Vitamin D₃-Serumkonzentration, dessen Maximum 12 – 24 h nach UVB-Bestrahlung erreicht wird (Holick, 1981). Durch Sonnencreme mit Lichtschutzfaktor 8 wird die Vitamin D-Synthese bis zu 95 % gehemmt (Clemens et al., 1982). Eine aktuelle Studie von Faurschou zeigte, dass die Haut trotz Sonnencreme Vitamin D synthetisiert. Die Vitamin D-Synthese wird erst ab einer Sonnencreme-Auftragsdicke von mehr als 2 mg/cm^2 vollständig inhibiert (Faurschou et al., 2012). Das in der Haut gebildete Vitamin D₃ gelangt im Blut, gebunden an das VDBP zur Leber. Dort findet der erste Schritt zur biologischen Aktivierung statt.

Eine Überdosis an Vitamin D₃ durch exzessive UV-Einstrahlung wurde bisher nicht beschrieben, da sich der Körper durch Produktion biologisch inaktiver Metabolite vor einer kurzfristigen Vitamin D Intoxikation schützt. Zu diesen Metaboliten gehören u.a. Lumisterol und Tachysterol (Holick et al., 1981). Weiterhin wird das nicht abtransportierte Vitamin D₃ durch fortbestehende UVB-Strahlung (bis zu 345 nm) in mindestens 3 weitere unwirksame Produkte (Suprasterol-1 und Suprasterol-2 sowie 5,6-Transvitamin D₃) umgewandelt. Diese Reaktionen sind bei Bedarf reversibel (Webb et al., 1989) (Abb. 2).

Ein hoher Melaniningehalt der Haut hemmt die UV-induzierte kutane Vitamin D-Synthese. Melanin wird in den Melanozyten der epidermalen Basalzellschicht gebildet und in Melanosomen gespeichert. Nach UV-Strahlung wird Melanin in das umliegende Hautgewebe abgegeben und erhöht dort die Pigmentierung der Haut. Es absorbiert UV-Licht im Wellenlängenbereich von 290 - 320 nm und konkurriert folglich mit 7-DHC um die UV-Strahlung. Dies verhindert längerfristig eine zu starke Vitamin D-Bildung bzw. -Intoxikation (Holick et al., 1980, Holick et al., 1981).

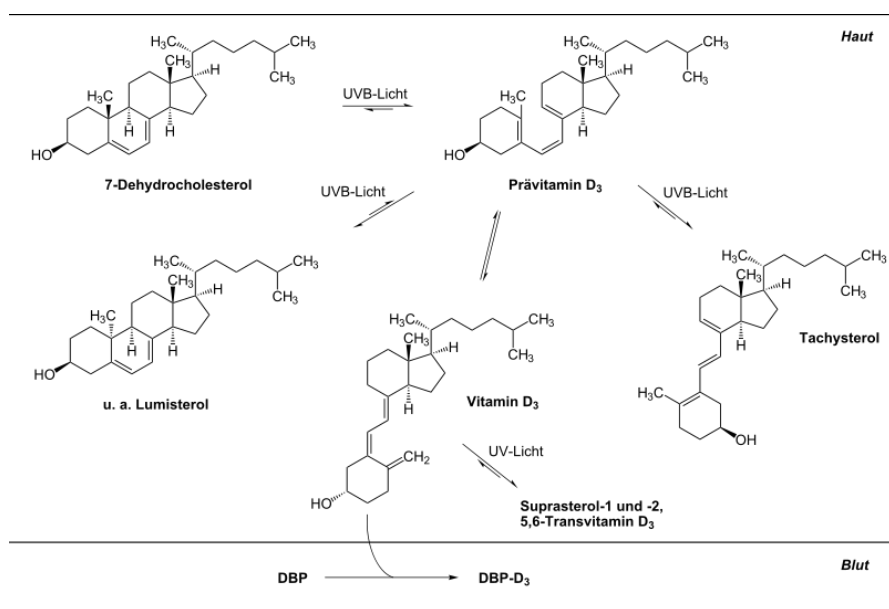


Abbildung 2: Kutane Vitamin D-Synthese (vereinfacht nach Holick (1995) und Norman (1998))

1.3.2 Regulation der Vitamin D-Synthese in der Haut

Physiologische-, genetische- sowie Umweltfaktoren können die Synthese von Vitamin D₃ in der Haut beeinflussen oder limitieren. Dazu gehören das Alter, der Gehalt an 7-DHC sowie die Melanin-Konzentration der Haut. Auch der Gebrauch von Sonnenschutzmitteln, Kleidung und der individuelle Hauttyp spielen eine große Rolle. Je nach Standort der Sonnenexposition haben Tages- und Jahreszeit, Breitengrad, Luftverschmutzung und Ozon-Belastung einen Einfluss auf die Vitamin D-Synthese (Lehmann et al., 2010).

Ab einem Alter von 20 Jahren nimmt die Dicke der Haut kontinuierlich ab. Der Gehalt an 7-DHC sinkt stetig. Es konnte gezeigt werden, dass dabei die Kapazität der Vitamin D₃-Synthese im Alter von 77 - 82 Jahren, im Vergleich zu 8 - 18 Jährigen um den Faktor 3 sinkt (Maclaughlin et al., 1985). Andere Studien zeigen, dass hellhäutige Hauttypen unter gleichen Bedingungen wesentlich schneller und mehr Vitamin D bilden als dunkle Hauttypen. Um nach UV-Strahlung äquivalente Vitamin D-Konzentrationen zu produzieren, müsste ein Dunkelhäutiger die bis zu 6-fache UV-Dosis eines Hellhäutigen erhalten (Clemens et al., 1982). Der 25(OH)D₃-Spiegel dunkler Hauttypen stets um ca. 50 % niedriger, verglichen mit hellen Hauttypen, identischer Breitengrade und Jahreszeiten (Dawson-Hughes, 1997). Eine aktuelle Studie postuliert hingegen, dass keine Korrelation zwischen dem Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration nach UV-Therapie und dem Hauttyp bestehe, wohl aber zwischen den 25(OH)D₃-Ausgangswerten (= Baseline-Werte) und der Cholesterin-Konzentration (Bogh et al., 2010).

1.3.3 Nutritive Vitamin D-Aufnahme

Aus der Nahrung aufgenommenes Vitamin D₂ und D₃ spielt besonders im Winter eine große Rolle, da dann die Energie der Sonneneinstrahlung nicht ausreicht, um genügend Vitamin D in der Haut zu bilden. Generell leistet das oral aufgenommene Vitamin D jedoch nur einen geringen Anteil von ca. 10 % am gesamten Vitamin D-Haushalt (Holick et al., 1980). Vitamin D wird intestinal aufgenommen und im Pfortaderblut an VDBP gebunden. Auf die orale Vitamin D-Dosis wird in Kapitel 1.11.1 „Orale Substitution von Vitamin D“ explizit eingegangen.

1.3.4 Hepatische Hydroxylierung von Vitamin D zu 25(OH)D₃

Das in der Haut synthetisierte Vitamin D₃, sowie das mit der Nahrung aufgenommene Vitamin D₂ und D₃, gelangen über den Blutweg zur Leber. Dort werden sie durch Enzyme mit 25-Hydroxylase-Aktivität in 25(OH)D₃ umgewandelt (Abb. 4), um anschließend zur Niere und anderen Organen transportiert zu werden.

Zu den wichtigsten Enzymen dieser Hydroxylierung zählen die Vitamin D-25-Hydroxylase [25(OH)ase, CYP27A1], ein mitochondriales P450 Enzym und/oder CYP2R1, ein mikrosomales Enzym der P450 Gruppe (Lehmann et al 2010, Dusso et al 2005). Die Synthese von 25(OH)D₃ kann jedoch auch durch andere Vertreter der Cytochrom P450-Familie mit 25-Hydroxylase-Aktivität erfolgen. Dazu zählen CYP2D6, CYP2C11, CYP3A4, CYP2D25, und CYP2J3 (Ohyama et al., 2004, Prosser et al., 2004). Bisher ist für die Hydroxylierung am Kohlenstoffatom C-25, außer der Zufuhr von Vitamin D₃ und D₂ keine nennenswerte Regulation bekannt (Holick et al., 1981). Anschließend wird 25(OH)D₃ gebunden an das VDBP zur Niere transportiert oder in Leber- und Fettgewebe gespeichert (Wortsman et al., 2000). Die Halbwertszeit von 25(OH)D₃ beträgt 15 Tage (G Jones 2008).

1.3.5 Renale Hydroxylierung von 25(OH)D₃ zu 1,25(OH)₂D₃

Die Hydroxylierung am C1-Atom ist der letzte Schritt zum biologisch, aktiven 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ (Calcitriol oder 1,25(OH)₂D₃). Sie findet hauptsächlich in der Niere, durch das Enzym 1 α -Hydroxylase (25-Hydroxyvitamin D-1-Hydroxylase, 1, α -OHase oder CYP27B1) statt (Fraser et al., 1970) (Abb. 4).

Dazu wird der 25(OH)D₃-VDBP-Komplex in der Niere gefiltert und im proximalen Tubulus rückresorbiert. Der Komplex wird an Cubulin gebunden und gelangt über Megalin-vermittelte Endozytose zurück in die Tubuluszelle (Abb. 3). Dort wird der Komplex im Lysosom gespalten, 25(OH)D₃ an intrazelluläre Vitamin-D-bindende Proteine (IDBP) gebunden und zur Mitochondrienmembran transportiert. Die 1 α -Hydroxylase ist in der Mitochondrienmembran verankert, und wandelt 25(OH)D₃ durch Hydroxylierung am C1 α -Atom in 1,25(OH)₂D₃ um. Wird

aktuell kein $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gebraucht, so wird $25(\text{OH})\text{D}_3$ abgebaut oder es verlässt unverändert die Nierenzelle, um erneut im Blutkreislauf zu zirkulieren (Dusso et al., 2005).

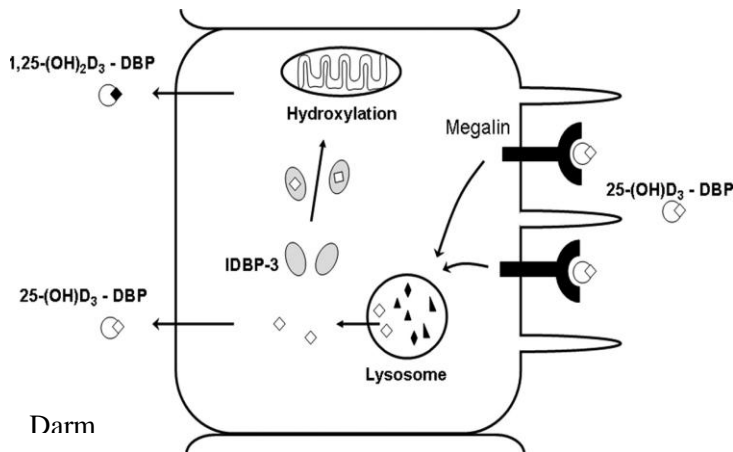


Abbildung 3:

Megalin gesteuerte Endozytose in die proximale Tubuluszelle.

Das 25-Hydroxyvitamin D3 ($25(\text{OH})\text{D}_3$) wird entweder über intrazelluläre Vitamin-D-bindende Proteine (IDBP) zur $1,\alpha$ -Hydroxylase transportiert oder erneut der Blutzirkulation zugeführt. (Adriana S. Dusso, Alex J. Brown, and Eduardo Slatopolsky; *Vitamin D Am J Physiol Renal Physiol* 289: F8-F28, 2005)

Ein erhöhter Parathormon-Serumspiegel oder insuffiziente Kalzium- und Phosphatspiegel steigern die Produktion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ durch vermehrte Transkription der $1,\alpha$ -Hydroxylase. Sinkt hingegen der Parathormonspiegel, wird die Bildung der $1,\alpha$ -Hydroxylase gestoppt und der Abbau von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induziert (Brenza et al., 1998, Murayama et al., 1998); (Abb. 4). Weiterhin hemmt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ seine eigene Synthese über einen negativen Feedbackmechanismus. Andere Regulatoren der $1,\alpha$ -Hydroxylierung sind u.a. der Fibroblasten Wachstumsfaktor 23 (FGF23), Östrogene, Glukocortikoide, Calcitonin, Somatotropin und Prolactin (Kumar et al., 1979, Dusso et al., 2005, Holick, 2007b, Lehmann et al., 2010). Im Blut zirkuliert $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in Serumkonzentrationen von 75 - 200 pmol/l und hat eine Halbwertszeit von 10 - 24 h (Levine et al., 1985); (Tab. 1).

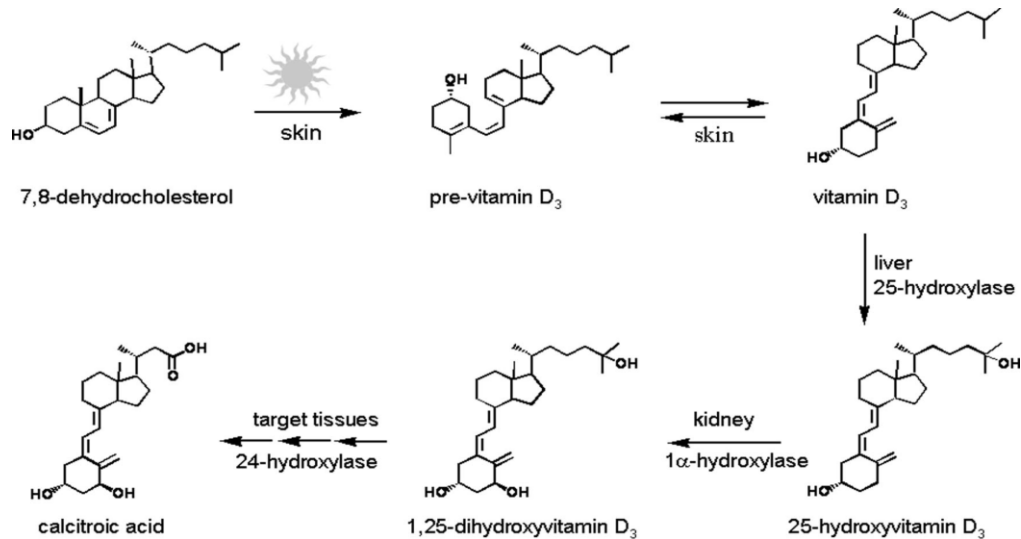


Abbildung 4:

Vitamin D₃-Synthese, -Aktivierung und -Stoffwechsel. Prävitamin D₃ entsteht durch UV Strahlung in der Haut aus 7-DHC und isomerisiert zu Vitamin D. Dieses wird per VDBP zur Leber transportiert und dort zu 25(OH)D₃, dem wichtigsten zirkulierenden Metaboliten umgewandelt. Der letzte Aktivierungsschritt, die 1α-Hydroxylierung findet hauptsächlich, aber nicht ausschließlich in der Niere statt. Die Inaktivierung von 1,25(OH)₂D₃ erfolgt durch die 24-Hydroxylase.

(Adriana S. Dusso, Alex J. Brown and Eduardo Slatopolsky; *Vitamin D*; *Am J Physiol Renal Physiol* 289:8-28, 2005. doi:10.1152/ajprenal.00336.2004)

1.3.6 Transport und Speicherung der Vitamin D-Metabolite

Vitamin D-Metabolite sind lipophile Moleküle mit geringer Löslichkeit im wässrigen Milieu. Aus diesem Grund erfolgt ihr Transport im Blut zu 99 % an Plasma-Proteine gebunden. Mit 88 % hat daran das VDBP den größten Anteil, 11 - 12 % sind an Albumin und andere Lipoproteine gebunden. Das VDBP bindet die Vitamin D-Metabolite hoch spezifisch mit unterschiedlicher Bindungsaffinität: 25(OH)D₃ ($K_a = 5 \times 10^{-8} M$) = 24,25(OH)₂D₃ > 1,25(OH)₂D₃ ($K_a = 2 - 4 \times 10^{-7} M$) > Vitamin D₃ ($K_a = 4 \times 10^{-5} M$ bis $4 \times 10^{-7} M$) (Kawakami et al., 1979, Jones, 2008). Aufgrund der hohen Bindekapazitäten liegt 1,25(OH)₂D₃ zu 0,4 % und 25(OH)D₃ lediglich zu 0,03 % als freies Steroid im Serum vor (Dusso et al., 2005, Meier et al., 2006, Lehmann et al., 2010). Durch die Bindung an Plasmaproteine unterliegen die Metabolite nur in geringem Umfang dem hepatischen Umbau sowie der biliären Ausscheidung. Folglich bringt die hohe Plasmabindung eine enorme Verlängerung der Halbwertszeit (für 25(OH)D₃ bis zu 2 Monate), (Tab. 1) mit sich. Das VDBP besitzt eine sehr hohe Plasmakonzentration wobei lediglich 5 % der freien Vitamin D-Bindungsstellen besetzt sind. Dadurch dient das VDBP neben der Transportfunktion als Puffer und schützt vor Intoxikationen durch ungebundene Vitamin D-Metabolite (Cooke et al., 1989, Vieth, 1999, White et al., 2000, Speeckaert et al., 2006, Jones, 2008).

Aufgrund der bereits erwähnten langen Halbwertszeit des VDBP-gebundenen-25(OH)D₃ dient es dem Körper als Vitamin D-Speicher. Der 25(OH)D₃-Serumspiegel gilt als zuverlässigster Laborparameter, welcher die Vitamin D₃-Versorgung der letzten 3 – 4 Monate widerspiegelt. Derzeit werden 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen von 75 - 200 nmol/l oder 30 - 80 ng/ml als optimaler Referenzbereich angegeben, um einem Vitamin D-Defizit vorzubeugen.

1.3.7 Extrarenale, lokale Produktion von 1,25(OH)₂D₃

Unter physiologischen Bedingungen ist die Niere der Hauptbildungsort von im Blut zirkulierendem 1,25(OH)₂D₃ aus 25(OH)D₃. Unter bestimmten Voraussetzungen (wie Schwangerschaft, chronische Niereninsuffizienz, Sarkoidose, Tuberkulose, Granulomatöse Erkrankungen und rheumatische Arthritis) sind auch andere Gewebe in der Lage 1,25(OH)₂D₃ zu synthetisieren, um zur Erhaltung des Serumspiegels beizutragen. Seit mehreren Jahren ist bekannt, dass mindestens 36 verschiedene Zelltypen autonome 1 α -Hydroxylaseaktivität besitzen und 1,25(OH)₂D₃ aus dessen Vorstufe herstellen können. Des Weiteren wurde publiziert, dass insgesamt mehr als 200 Gene ein „Vitamin-D-responsive Element (VDRE)“ besitzen und damit zumindest teilweise durch 1,25(OH)₂D₃ in ihrer Expression reguliert werden (Dusso et al., 2005, McCullough et al., 2009). Im gesunden Organismus hat die extrarenale 1,25(OH)₂D₃ Produktion überwiegend autokrinen und parokrinen Charakter. Zu den beschriebenen autokrinen und parokrinen Funktionen zählen u.a. die Regulation der Zelldifferenzierung, Proliferation, Apoptose, Immunmodulation sowie Signalwege via Wachstumsfaktoren (Abb. 5). Weitere potentielle Funktionen sind der Schutz vor oxidativem Stress, Mitwirkung im Gallensäurestoffwechsel, Zelladhäsions-Regulation, DNA-Repair und Angiogenese (McCullough et al., 2009). Durch diese Erkenntnisse gewinnen autokrine und parakrine Wirkungen des 1,25(OH)₂D₃ zunehmend an Bedeutung. Zu den Zellen und Geweben, in denen die 1 α -Hydroxylase beschrieben und nachgewiesen wurde, zählen unter anderem Haut (Keratinocyten), Lunge, Prostata, Plazenta, Mamma, Kolon, β -Zellen des Pankreas, Monozyten, T-Lymphozyten, Dendritische Zellen, Knochen und Zellen der Nebenschilddrüse (Lehmann et al., 2003, Ebert et al., 2006, Hewison et al., 2007, Lehmann et al., 2010). Die extra-renale Synthese von 1,25(OH)₂D₃ wird vor allem durch Wachstumsfaktoren und Zytokine reguliert (Lips, 2006).

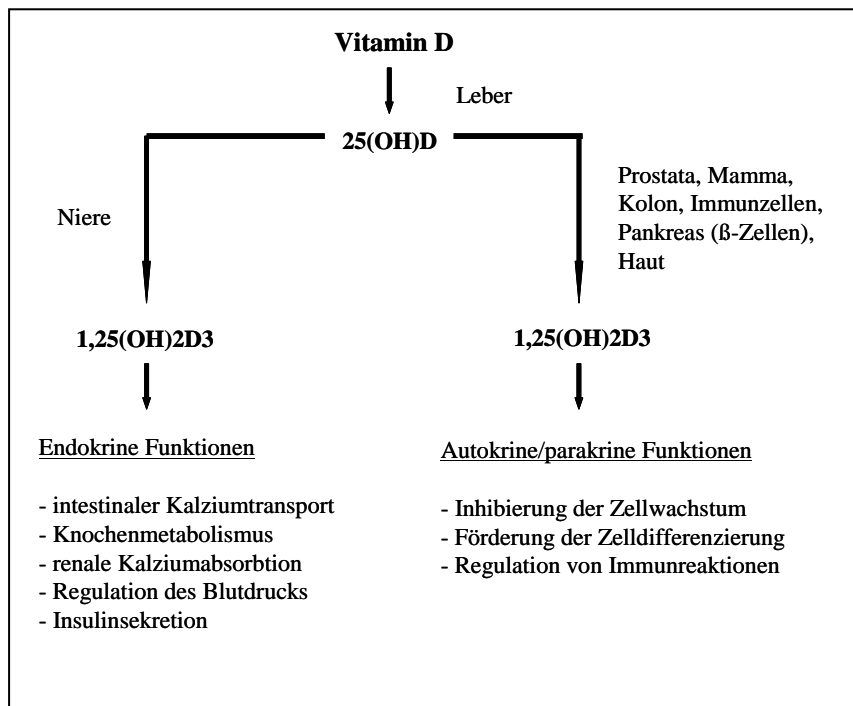


Abbildung 5: Renal und extra-renal gebildetes 1,25(OH)₂D₃ zeigen unterschiedliche Funktionen im Organismus.

(Modifiziert nach Adriana S. Dusso, Alex J. Brown and Eduardo Slatopolsky; *Vitamin D; Am J Physiol Renal Physiol* 289:8-28, 2005)

1.3.8 Abbau von 25(OH)D₃ und 1,25(OH)₂D₃

Der Abbau von 25(OH)D₃ (Calcidiol) und 1,25(OH)₂D₃ (Calcitriol) erfolgt enzymatisch, durch die 24-Hydroxylase (25-Hydroxyvitamin D₃-24-Hydroxylase, 24(OH)ase, CYP24A1). Dies ist ein mitochondriales Enzym der Cytochrom P450-Superfamilie. Es induziert die Spaltung der Seitenketten im Molekül, wodurch über Zwischenprodukte (u.a. 24R,25(OH)₂D₃), biologisch inaktive, wasserlösliche Calcitronsäure entsteht. Die Synthese der 24-Hydroxylase wird durch die Anwesenheit von 1,25(OH)₂D₃ in Gang gebracht. Dazu bindet der VDR an zwei VDRE im Promotor des CYP24A1-Gens und startet die Transkription. Auf diesem Weg induziert 1,25(OH)₂D₃ seinen eigenen Abbau (Chen et al., 1995, Ohya et al., 2004, Lehmann et al., 2010).

1.4 Endokrine Wirkung des 1,25(OH)₂D₃ im Kalziumstoffwechsel

Die endokrine Wirkung von 1,25(OH)₂D₃ ist essentielle Komponente und Grundpfeiler des Kalziumstoffwechsels. Eine strenge Kalziumhomöostase ist notwendig, um normale Zellfunktionen, Membranpotentiale sowie den Knochenstoffwechsel zu erhalten. Zu den Organen die am Kalziumstoffwechsel beteiligt sind zählen Niere, Darm, Knochen und Nebenschilddrüse (Dusso et al., 2005) (Abb. 6).

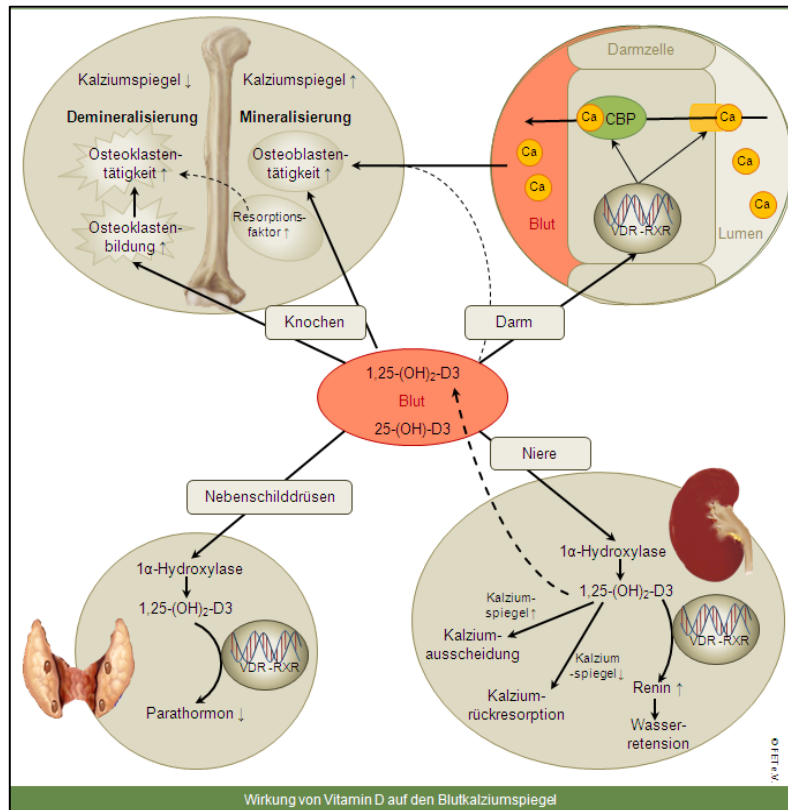


Abbildung 6: Regulation des Kalziumstoffwechsels durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$,

(Fachgesellschaft für Ernährungstherapie und Prävention; Fachinfo: Vitamin D, http://www.fet-ev.eu/components/com_jshopping/files/img_products/thumb_vitd1.png)

1.4.1 Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an der Nebenschilddrüse

Die Parathormon-Synthese wird induziert durch Serum-Kalziumspiegel $\leq 1,25 \text{ mmol/l}$ (der Kalziumspiegel wird dabei vom Kalzium-abhängigen-Rezeptor, dem Calcium-sensing-Rezeptor = CASR erkannt) oder $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Serumspiegel $\leq 30 \text{ ng/ml}$ (Holick, 2007b). Sinkt der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Gehalt in den Zellen der Nebenschilddrüse, verliert der intranukleäre VDR seinen Liganden. Folglich kann der VDR seine Funktion als Suppressor des Parathormon-Genes nicht mehr aufrecht halten. Es kommt zur Transkription, mRNA-Produktion und Ausschüttung von Parathormon aus der Nebenschilddrüse (Abb. 7). Aufgabe des Parathormons ist es, adäquate Kalziumspiegel herzustellen. Um dies kurzfristig zu gewährleisten, wird der Knochenabbau durch Differenzierung und Aktivierung von Osteoklasten induziert. Dabei wird Kalzium frei, welches den Kalzium-Serumspiegel kurzfristig anhebt. Um einer längerfristigen, negativen Knochenkalziumbilanz vorzubeugen, wird die Transkription der $1,\alpha$ -Hydroxylase in der Niere induziert, um über gesteigerte $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumspiegel die Kalziumaufnahme aus Darm und Niere zu erhöhen. Ist eine optimale $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Serumkonzentration erreicht, bindet $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an den VDR in der Nebenschilddrüse, und supprimiert dort die Bildung von Parathormon (Dusso et al., 2005, Holick, 2007b).

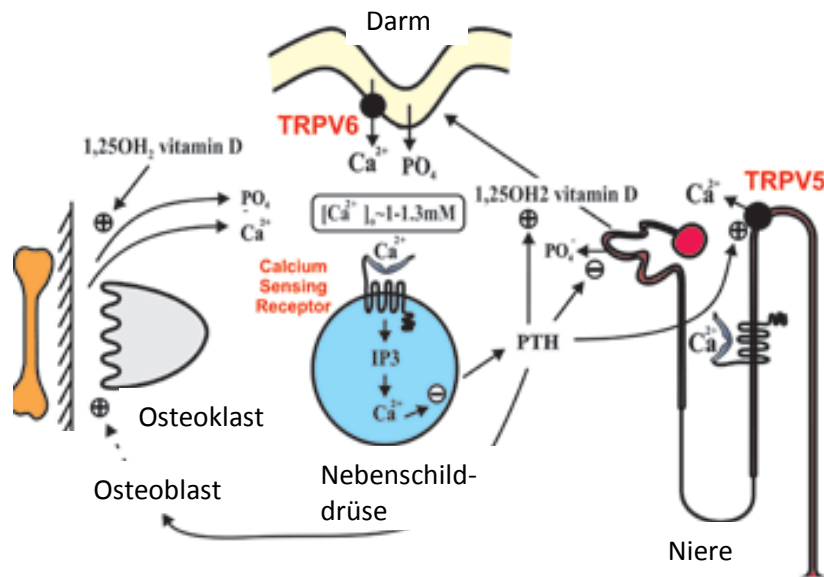


Abbildung 7:

Die strenge Regulation der Ca^{2+} -Homöostase durch Parathormon. Ein sinkender Ca^{2+} Spiegel wird durch den Ca^{2+} -Rezeptor (CASR) erkannt und Parathormon wird gebildet. Parathormon steigert die Knochenresorption, die renale Ca^{2+} -Rückresorption und die Bildung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, dies steigert die intestinale Ca^{2+} -Aufnahme und hemmt wiederum die Parathormonsynthese.

(Universität Bern, Institut für Biochemie und Molekulare Medizin; Arbeitsgruppe um Hediger;

http://www.ibmm.unibe.ch/unibe/medizin/ntbiomol/content/e537/e611/e838/e1283/human-calcium-homeostasis_eng.gif)

1.4.2 Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an der Niere

In der Niere steigert $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Kalziumrückresorption, indem die Expression eines epithelialen Kalziumkanals (TRPV5 /CaT2 /eCaC = epithelial Ca^{2+} channel) via VDR verstärkt wird (Abb. 7). Gleichzeitig wird vermehrt Calbindin, ein kalziumbindendes Protein, synthetisiert um das rückresorbierte Kalzium intrazellulär zu binden. In Anwesenheit von Parathormon wird zusätzlich die Kalzium-Reabsorption im distalen Tubulus gesteigert und die Phosphat-Reabsorption gehemmt. Dieser Mechanismus gewährleistet ein ausgewogenes Kalzium-Phosphat-Verhältnis, welches den weiteren Abbau von Knochenmatrix verhindert (Dusso et al., 2005, Holick, 2007b).

1.4.3 Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Darm

Im Darm bewirkt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine gesteigerte intestinale Kalzium- und Phosphatresorption aus der Nahrung. Für die Kalziumaufnahme in die Mukosazelle, welche im terminalen Ileum stattfindet, ist ein elektrogener Kalziumkanal auf der luminalen Seite des Enterozyten erforderlich (Abb. 7). Heute weiß man, dass die Kalziumaufnahme mittels epithelialen Kalziumkanal „TRPV6“ (TRPV = transient receptor potential/Vanillin- auch bekannt als CaT1 oder ECaC2) und zu geringerem Anteil über

„TRPV5“ (auch bekannt als ECaC1 oder CaT2) erfolgt. Das aufgenommene Kalzium wird, an Calbindin gebunden, durch die Zelle zur basolateralen Seite der Mukosazelle transportiert. Um dem Blutkreislauf das aufgenommene Kalzium zur Verfügung zu stellen, wird es an der basolateralen Seite mithilfe der membranösen Kalzium-ATPase (PMCA) und dem $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher (NCX1) an das Blut abgegeben (Abb. 8). Die Transkription und Aktivität der Kalziumkanäle (TRPV5 und TRPV6) Calbindin sowie der Kalzium-ATPase wird durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mittels VDR induziert und gesteuert (Bouillon et al., 2003, Bikle, 2009).

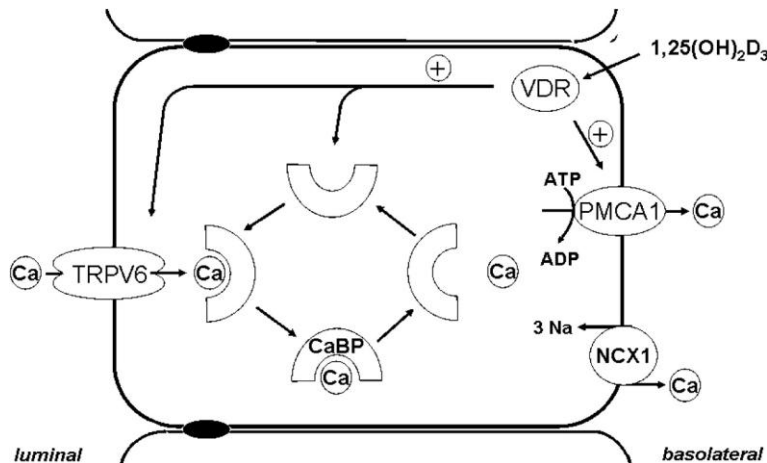


Abbildung 8:

Regulation des epithelialen Kalziumtransport durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Der epitheliale Kalzium Transport erfolgt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gesteuert, indem folgende Mechanismen induziert werden 1.) Einstrom von Kalzium (Ca^{2+}) durch apikale Kalziumkanäle (TRPV6 oder TRPV5) 2.) Calbindin (CaBP) transportiert Kalzium zur basolateralen Zellmembran 3.) die basolaterale Plasma-Kalzium-ATPase (PMCA1) pumpt Kalzium aus der Zelle in den Blutkreislauf.

(Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E; „Vitamin “; *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005 Jul;289(1):F8-28)

1.4.4 Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ am Knochen

Vitamin D-Mangel äußert sich bei Kindern als Rachitis, bei Erwachsenen als Osteomalazie. Obwohl Knochenschäden aufgrund von Vitamin D-Mangel durch Gabe von Kalzium und Phosphat verhindert bzw. ausgeglichen werden können, spielt das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine große Rolle für den geregelten Auf- und Abbau der Knochen. Es beeinflusst dabei ossäre Wachstumsfaktoren, unter anderem den „Insulin-like growth faktor 1 (IGF-I), den „transforming growth factor β “ (TGF β), den „vaskular endothelial growth factor“ (VEGF), Interleukin-6 und -4 (IL-6/-4) sowie den endothelialen-Rezeptor. All diese Faktoren sind verantwortlich für den gesteuerten enchondralen Aufbau des Knochens, dessen Vaskularisation und Mineralisierung. Sinkt die Kalzium-Serumkonzentration, erfolgt der durch Parathormon induzierte Knochenabbau. Dies geschieht über eine Osteoblasten-induzierte Osteoklasten-Aktivierung. Die Osteoblasten exprimieren unter dem Einfluss von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und von VDR gesteuert das RANKL (receptor activator of nuclear factor (NF)- κB ligand) als Membranprotein auf ihrer Zelloberfläche. RANKL kann entweder an Osteoprotegerin (osteoblast-derived soluble decoy receptor = OPG) oder an den RANK-Rezeptor der Osteoklasten und deren Precursorzellen binden. Durch die Bindung an den RANK-Rezeptor entsteht ein Zell-Zell-Kontakt zwischen Osteoblasten und Osteoklasten. Unter dem Einfluss weiterer Wachstumsfaktoren (u.a. m-

CSF = colony stimulationg factor) wird die Differenzierung und Aktivierung der Osteoklasten induziert. Im Gegenzug kann $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ den Knochenabbau verhindern, indem es die Bildung des löslichen OPD fördert. OPD bindet an RANKL der Osteoblasten und blockiert deren Bindung an den RANK-Rezeptor der Osteoklasten. Dadurch kann die Osteoklasten-Differenzierung gestoppt, und dem Knochenabbau entgegen gewirkt werden (Dusso et al., 2005, Holick, 2007b, Bikle, 2009) (Abb. 9).

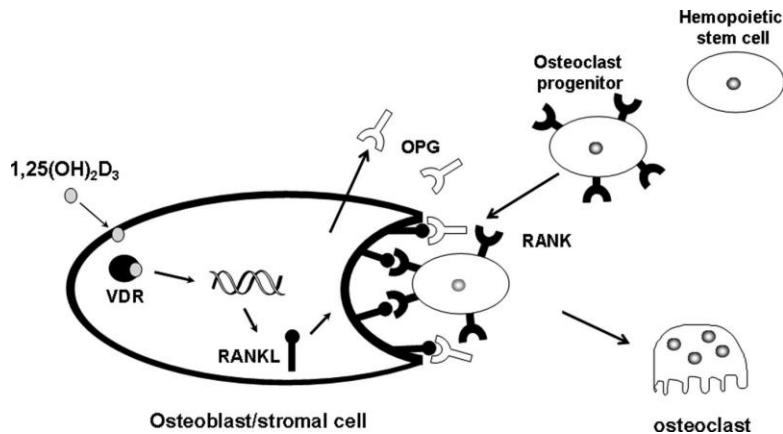


Abbildung 9:

Der Knochenabbau erfolgt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ /VDR vermittelt.

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reguliert die Osteoklasten-Aktivität durch reziproke Expression des RANKL (receptor activator of nuclear factor (NF)-kB ligand) auf Osteoblasten sowie des löslichen Osteoprotegerin (OPG). Die Bindung von RANKL an den RANK-Rezeptor der Osteoklasten induziert deren Differenzierung und Aktivität. Erfolgt die Produktion von OPG, bindet dieses an den RANKL der Osteoblasten und verhindert die Aktivierung der Osteoklasten. Der Knochenabbau wird dadurch verhindert.

(modifiziert nach Adriana S. Dusso, Alex J. Brown, and Eduardo Slatopolsky: Vitamin D- invited review, *Am J Physiol Renal Physiol* 289: F8–F28, 2005; doi:10.1152/ajprenal.00336.2004)

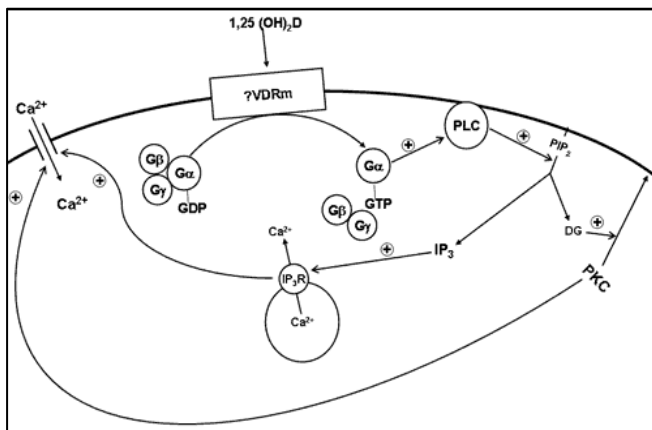
1.5 Genomische und nicht-genomische Wirkungen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

Man unterscheidet genomische Wirkungen des Vitamin D von nicht-genomischen Effekten. Wie bereits beschrieben entfaltet $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ seine genomische Wirkung durch Interaktion mit einem intrazellulären VDR. Neben dem „genomischen Wirkprinzip“, welches bis zu Stunden dauert, beobachtete man in verschiedenen Geweben auch „schnelle“ transkriptions-unabhängige Effekte, die innerhalb von Sekunden bis Minuten eintreten. Erstmals wurde ein $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ unabhängiger Kalzium-Transport bei Mäusen mit „knock out“ der $1,\alpha$ -Hydroxylase beschrieben (Van Abel et al., 2003). Solche „schnellen Vitamin D-Effekte“ wurden weiterhin in der Niere, Nebenschilddrüse, Muskel, Chondrozyten, Fibroblasten, Hepatozyten und Keratinozyten, sowie in Zellen des hämatopoetischen Systems und Insulinomzellen nachgewiesen (Fleet, 2004, Lips, 2006, Norman, 2006, Holick, 2007b, Reichrath, 2007, Lehmann et al., 2010).

Man nimmt an, dass einige der nicht genomischen Vorgänge mithilfe des membrangebundenen Vitamin D-Rezeptors (1 α 25-dihydroxy-membrane assoziiated rapid response steroid binding = MARRS) sowie durch andere Plasmamembranrezeptoren und Second Messenger vermittelt werden. Daraus resultieren Signalwege, die auf unterschiedlichen Substanzen (Phosphoinositol, veränderte intrazelluläre Kalziumspiegel, pH-Wert-Änderungen, Konzentrationsänderungen von zyklischen Adenosin- und Guanosintriphosphat (cATP/cGTP) und veränderte Proteinkinase C und -D Aktivitäten) basieren (Abb. 10). Verschiedene Zellaktivitäten, wie z. B. die Zellzykluskontrolle und die intestinale Kalziaufnahme werden z.T. über diese Signalwege vermittelt (Nemere et al., 2004, Norman et al., 2004, Norman, 2006, Holick, 2007b, McCullough et al., 2009, Lehmann et al., 2010). Der exakte Wirkmechanismus des MARRS-Rezeptors, seine Rolle im Stoffwechsel und sein Expressionsmuster sind derzeit jedoch noch weitgehend unklar und Ziel weiterer Forschungsarbeiten (Fleet, 2004, Richard et al., 2010, Wu et al., 2010). Die nicht-genomische Wirkung konnte inzwischen auch für andere Steroidhormone nachgewiesen werden (Fleet, 2004, Norman et al., 2004).

Abbildung 10:

Ein mögliches Modell der nicht genomischen Wirkung von 1,25(OH) $_2$ D $_3$.



Bindung des 1,25(OH) $_2$ D $_3$ an einen Membranrezeptor. Die Aktivierung von G-Proteinen führt zur Aktivierung der Phospholipase C. Diese spaltet Phosphatidyl-Inositol-bisphosphat (PIP $_2$) in Inositoltriphosphat (IP $_3$) und Diacylglycerin (DG). IP $_3$ entleert über seinen Rezeptor am Endoplasmatischem Retikulum die intrazellulären Kalziumspeicher. DG aktiviert die Proteinkinase C (PKC). Beide, Kalzium und PKC, könnten den Einstrom des Kalziums über die Zellmembran via Kalziumkanäle steuern.

(Daniel D. Bikle, Chapter 3 – Vitamin D: Production, Metabolism, and Mechanisms of Action, 2009)

1.6 Vitamin D-Rezeptor (VDR)

Der nukleäre VDR vermittelt die endokrinen Funktionen des Vitamin D. Er zählt zur Superfamilie der nukleären Rezeptoren vom Typ 2 (Kliwer et al., 1992, Moore et al., 2006). Sein Gen (> 100 kb) ist auf dem langen Arm von Chromosom 12q12-14 lokalisiert und umfasst acht kodierende Exone (bezeichnet als 2 - 9) sowie sechs nicht-kodierende Exone (1a - f) (Baker et al., 1988, Szpirer et al., 1991). In der menschlichen Bevölkerung gibt es viele genetische Polymorphismen des VDR-Gens mit großen Unterschieden zwischen Rassen und ethnischen Gruppen (auf allgemeine Informationen bzgl. Polymorphismen soll an dieser Stelle auf Kapitel 1.7.2. „Polymorphismen des VDBP“ verwiesen werden). Bisher sind bereits mehr als 60 VDR-Polymorphismen bekannt. Bis dato wurden nur einige

wenige VDR-Polymorphismen (darunter rs731236, rs 757343, rs2107301, rs1544410, rs2228570, rs7975232, rs4516035, rs739837, rs11568820, rs2228570) in Zusammenhang mit der Inzidenz und Prognose verschiedener Erkrankungen untersucht (Kostner et al., 2009, Mccullough et al., 2009, Denzer et al., 2011, Schafer et al., 2012). Aufgrund seiner hohen Affinität zu $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($K_d = 0,1 \text{ nM}$) und der Funktion als Liganden-aktivierter Transkriptionsfaktor gilt der VDR als klassischer Hormonrezeptor. Um diesen Funktionen gerecht zu werden, besitzt der VDR unterschiedliche Bindungsdomänen (Abb. 11).

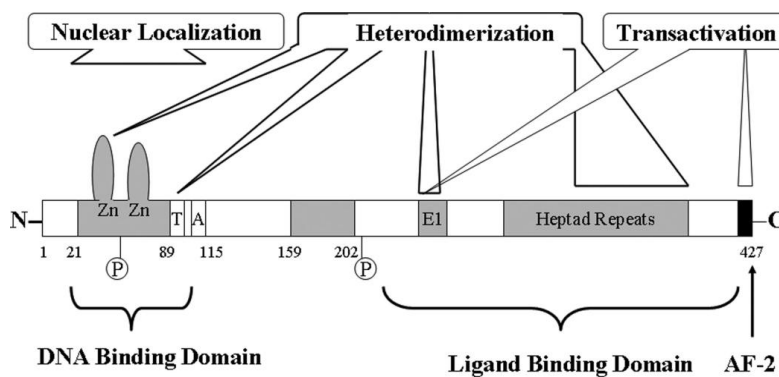


Abbildung 11:

Die Molekülstruktur des VDR ähnelt dem Aufbau anderer Steroidrezeptoren

(Dusso et al., 2005)

Die Ligandenbindungsdomäne (LBD) am C'-Terminus des VDR ermöglicht eine 100-mal stärkere Bindung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ verglichen mit $25(\text{OH})\text{D}_3$ oder $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Durch die Bindung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an den VDR wird dieser phosphoryliert. Der phosphorylierte VDR bindet an den Retinoid-X-Rezeptor (RXR- α , β und γ), ein weiteres Mitglied der nukleären Hormonrezeptoren (Kliwer et al., 1992) (Abb. 12). Der VDR/RXR-Komplex wird mithilfe des nukleären Transportproteins Importin- α zum Nukleus transportiert. Als Bindungsstelle für Importin- α dient die AF2-Region (liganddependent activation function 2-Region) des VDR (Goldfarb et al., 2004). Im Nukleus bindet der VDR/RXR-Komplex sequenzspezifisch an das Vitamin D-responsive-Element (VDRE) in der Promotorregion des Zielgenes. Die sequenzspezifische Bindung erfolgt durch die DNA-Bindungsdomäne (DBD) am N'-Terminus des VDR. Sie ist gekennzeichnet durch 2 charakteristische, schleifenförmige „Zinkfingerstrukturen“ und ein spezifisches DNA-Bindemotiv in Form eines doppelten AGGTCA-Musters. Die Zinkfingerstrukturen sowie das spezifische DNA-Bindemotiv unterstützen die hochaffine Interaktion zwischen VDR und VDRE. Nach der Bindung des VDR/RXR-Heterodimers am VDRE, werden weitere Bestandteile des Transkriptions-Initiationskomplexes angelagert. Unter Mitwirkung verschiedener Transkriptions-Coaktivatoren und -Corepressoren wird die Transkription gesteuert. Der VDR ist in der Lage, als Suppressor oder Enhancer regulatorisch auf die Transkription des Zielgenes (u.a. Osteocalcin, Osteopontin, Calbindin und 24-

(OH)ase) einzuwirken. Neben den klassischen Zielgeweben des Vitamin D-Hormons (u.a. Darm, Nieren, Knochen) wird der VDR auch in vielen anderen Geweben unterschiedlich stark exprimiert, wie zum Beispiel in der Haut (Keratinozyten), Brust, Hypophyse, Nebenschilddrüsen, β -Zellen der Pankreasinseln, Keimdrüsen, Gehirn, Skelettmuskel, zirkulierende Monozyten sowie aktivierten B- und T-Lymphozyten. Zudem wurde der VDR nicht nur im Zellkern, sondern in geringen Mengen auch im Zytosol nachgewiesen (Minghetti et al., 1988, Gronemeyer et al., 1995, Aranda et al., 2001, Reichrath et al., 2004, Dusso et al., 2005, Lips, 2006, Bikle, 2009, Lehmann et al., 2010).

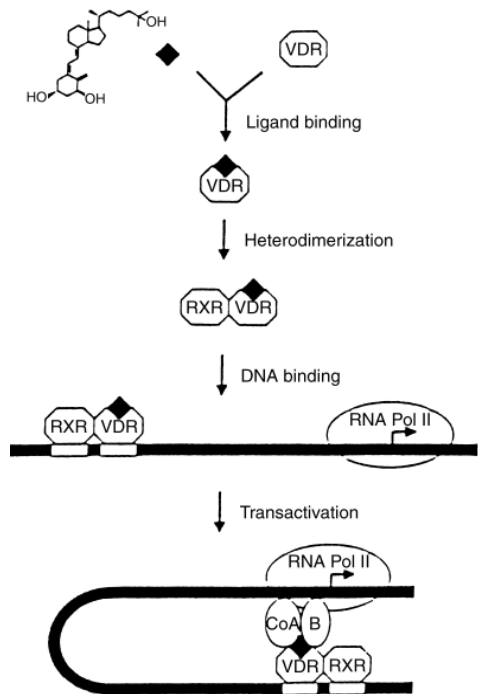


Abbildung 12:

Kontrolle der Genexpression durch 1,25(OH)₂D₃.

(1) Der Ligand bindet an der VDR

(2) Heterodimerisation des VDR mit dem Retinoid X-Rezeptor (RXR);

(3) Bindung des VDR/RXR-Komplex an das VDRE

(4) Rekrutierung von Komponenten des RNA Polymerase II (Pol II) Komplex, und der Interaktion mit den Coaktivatoren (CoA) und Transkriptionsfaktor IIB (B).

(Brown, AJ: Therapeutically active vitamin D analogs. *Nephrol Exchange* 1999 8:14–19)

1.7 Das Vitamin D-bindende Protein (VDBP)

Das VDBP, auch Gc-Globulin (Group-specific-component; von Hirschfeld im Jahre 1959 benannt) genannt, gehört zur Albumin-Superfamilie und ist ein hoch polymorphes Serum-Glykoprotein. VDBP wird zur Albumin-Superfamilie gezählt, da es nahe den Genen für Albumin (ALB), alpha-Fetoprotein (AFP) und alpha-Albumin/afamin (AFM) lokalisiert ist. Das multifunktionale VDBP akkumuliert in der Serum-Gelelektrophorese innerhalb der alpha-2-Globulin Fraktion (Cooke et al., 1985, Song et al., 1999, Speeckaert et al., 2006, Sinotte et al., 2009). Die Bildung erfolgt in Mengen von ca. 10 mg/kg/d (Kawakami et al., 1981), in der Leber und ist östrogenabhängig (Bouillon et al., 1981, Aarskog et al., 1983). Im gesunden Patienten kommt das VDBP, je nach Autor in Gesamtplasmakonzentrationen von 200 – 600 μ g/ml oder 6 – 8 μ M vor, und besitzt im Vergleich zu anderen Vertretern der Albumin-Superfamilie oder seiner Liganden eine sehr hohe Plasmakonzentration. Die Serumkonzentration des VDBP ist weder von der Jahreszeit, noch von der Menge an Vitamin D-Metaboliten abhängig

(Bouillon et al., 1981, Speeckaert et al., 2006). Geringe Plasma-Halbwertszeiten von 2,5 - 3 Tagen zeichnen das VDBP aus (Tab. 1). Sein Abbau erfolgt über Proteasen (Haddad et al., 1981, Kawakami et al., 1981, Cooke et al., 1989, Lauridsen et al., 2001, Jorgensen et al., 2004). Durch Schwangerschaft und Hormontherapien wird die VDBP-Synthese gesteigert (Bouillon et al., 1981). Patienten mit Lebererkrankungen, nephrotischen Syndrom oder Mangelernährung sind durch niedrige VDBP-Konzentration gekennzeichnet, was auf die verminderte Bildung beziehungsweise einen erhöhten, renalen Verlust zurückzuführen ist (Bikle et al., 1985, Bikle et al., 1986, Speeckaert et al., 2006). Nachgewiesen wurde das VDBP bisher im Blutplasma, Aszitisflüssigkeit, Liquor und auf der Oberfläche verschiedener Zelltypen wie glatten Muskelzellen und Kardiomyozyten.

Tabelle 1: Die Vitamin D-Metabolite und ihre Plasma-Halbwertszeit. (Pittas et al 2010, Wang 2010, Sinotte et al 2009, Jones 2008, Lehmann und Meurer 2010)

<i>Vitamin D-Metabolit</i>	<i>Halbwertszeit</i>
VDBP	2,5 – 3 Tage
25(OH)D ₃	15 Tage bis 2 Monate
1,25(OH) ₂ D ₃	10-24 Stunden

1.7.1 Struktur des VDBP

Das VDBP-Molekül ist 52 - 58 kDa groß (Kawakami et al., 1981, Cooke et al., 1985), besitzt 458 Aminosäuren und wird durch 1690 Nukleotide auf dem langem Arm von Chromosom 4 (4q11–q13) verschlüsselt. Aufgrund seiner Primärstruktur (28 Cysteine) bildet das VDBP multiple Disulfidbrücken aus (Abb. 13) (Verboven et al., 2002). Bisher konnten drei Bindedomänen identifiziert werden. Darunter eine Sterol- und zwei nicht-Sterol-Bindedomänen. Für Vitamin D-Metabolite steht die Bindedomäne 1 zur Verfügung, wohingegen die Aktinbindung an Domäne 2 erfolgt (White et al., 2000). Durch eine Deglykosylierung in Domäne 3 kann das VDBP zum Makrophagen-aktivierenden-Faktor (VDBP-MAF/Gc-MAF) konvertiert werden (Yamamoto et al., 1993, Haddad, 1995, Ray, 1996, Yamamoto et al., 1996). Auf DNA-Ebene sind bisher mehrere gut erforschte codominante Allele (Polymorphismen), sowie weitere 120 seltene Varianten bekannt (Cleve et al., 1988).

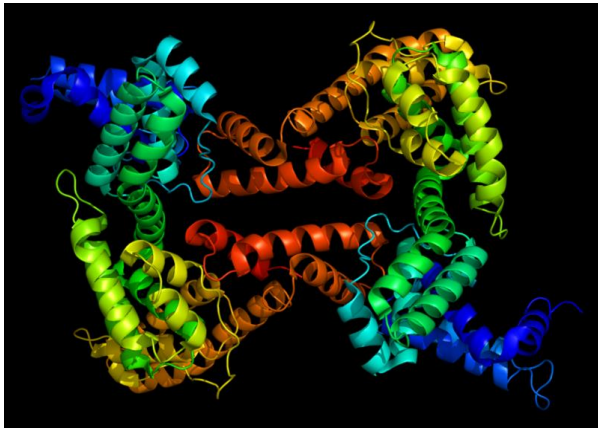


Abbildung 13:

Kristallographische Struktur des Vitamin D-bindenden Proteins.

(Verboven C, Rabijns A, De Maeyer M, Van Baelen H, Bouillon R, De Ranter C (February 2002). "A structural basis for the unique binding features of the human vitamin D-binding protein". Nat. Struct. Biol. 9 (2): 131–6.)

1.7.2 Polymorphismen (SNP) des VDBP

In der Genetik bezeichnet man einen Polymorphismus als Nukleotidaustausch in der Sequenz eines Genes, dessen Prävalenz $> 1\%$ in der Bevölkerung entspricht. Ein Polymorphismus kann aufgrund eines Einzelnukleotidaustausches (Single Nucleotide Polymorphismus, SNP) entstehen, auch Insertions-, Deletions- und Multiplikationspolymorphismen sind möglich. Nach internationaler Nomenklatur werden Polymorphismen durch eine Zahlen- und Buchstaben-Kombination verschlüsselt. Der Zahlencode gibt die jeweilige Lokalisation im Gen an, die Buchstaben kodieren den Austausch der Base oder Aminosäure. Zur besseren Internationalen Nomenklatur wird jedem SNP eine Referenz-Nummer (rs-Nummer) zugeordnet. Auf der Homepage des „National Center for Biotechnology Information (NCBI)“ wurde eine Datenbank aller bekannten SNP erstellt (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). Hier können zu jedem SNP die Gen-Lokalisation, Prävalenz in verschiedenen ethnischen Gruppen, sowie weitere Informationen abgerufen werden.

Lange Zeit waren hauptsächlich zwei SNP im VDBP bekannt und untersucht (SNPs, rs7041 = Glu416Asp und rs4588 = Thr420Lys) beide sind in Bindedomäne III lokalisiert. Aus der Kombination dieser beiden Polymorphismen ergeben sich drei Haplotypen des VDBP (Abb. 14), welche nach ihrer unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit in der Gelelektrophorese Gc-1s (slow), Gc-1f (fast) und Gc-2 genannt werden. Die Gc-1 Proteine sind durch eine O-Glykosylierung am Threonin der Position 420 ausgezeichnet. Ein Unterschied zwischen Gc-1s und der Gc-1f-Isoform besteht in einem posttranslational angehängten N-acetyl-neuraminsäure-Rest an Gc-1s (Aarskog et al., 1983, Arnaud et al., 1993). Im Polymorphismus rs7041 kommt es zu einem T/G-Basenaustausch an Position 416. Daraus resultiert im Gc-1s-Allel ein Aminosäureaustausch von Aspartat (GAT) gegen Glutamin (GAG). An Position 420 liegt der Polymorphismus rs4588. Hier findet ein C/A-Basenaustausch statt. Dadurch enthalten beide Gc1-Isoformen ein Threonin (ACG) in der Aminosäuresequenz, während das Gc-2-Allel die basische Aminosäure Lysin (AAG) verschlüsselt

(Christiansen et al., 2007, Sinotte et al., 2009). Epidemiologische Studien zeigten, dass die Häufigkeit der jeweiligen Haplotypen je nach Hauttyp und Bevölkerungsgruppe variiert (Tab. 2) (Fang et al., 2009). Lediglich in der Tuarek Kel Kumar Population im Süden der Sahara konnte bisher kein Gc-2-Allel nachgewiesen werden (Kamboh et al., 1986).

Tabelle 2: Die Prävalenzen der Genotypen im VDBP variieren in der Kaukasischen und Japanischen Bevölkerung

<u>Population (Hauttyp)</u>	<u>Gc-1s</u>	<u>Gc-1f</u>	<u>Gc-2</u>
Kaukasier / hellhäutig (Fang et al., 2009)	56%	16%	27%
Japanisch Bevölkerung / keratinozytenreich, dunkelhäutig, (Ishimoto et al., 1979)	24%	49%	25%

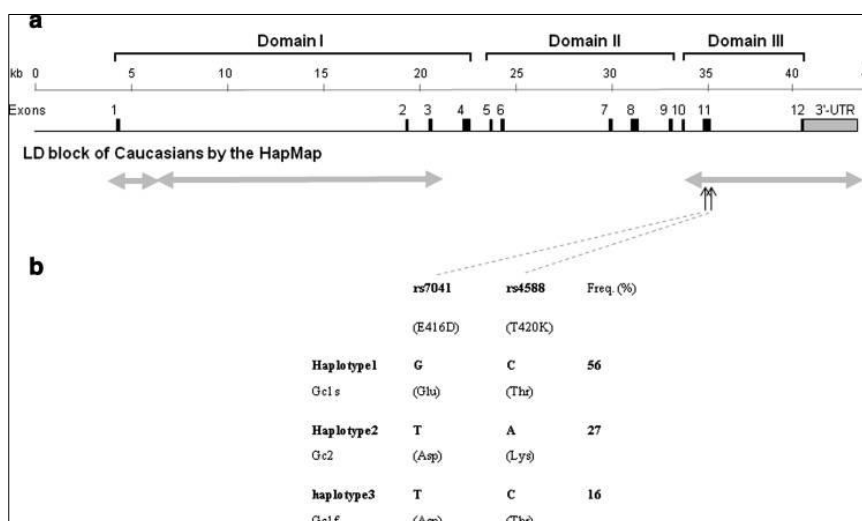


Abbildung 14:

Die drei Bindedomänen des VDBP: Domäne 1 ist die Stelle der Vitamin D-Bindung, Domäne 2 bindet Aktin und Domäne 3 kann als Makrophagenaktivator fungieren (VDBP-MAF).

(Yue Fang et al; Vitamin D Binding Protein Genotype and Osteoporosis; Tissue Int (2009) 85:85–93)

1.7.3 Zusammenhang zwischen VDBP-Polymorphismen und Vitamin D-Serumspiegel

Früher war man der Meinung, dass die Menge an Vitamin-D Metaboliten stark und positiv mit der Menge an VDBP korreliert (Bouillon et al., 1981). Andere Forschungsgruppen zeigten jedoch, dass nicht die VDBP-Konzentration, sondern der Phänotyp des VDBP die mittlere Plasmakonzentration von 25(OH)D₃ und VDBP bestimmen (Lauridsen et al., 2001, 2005). Dabei zeigten die Genotypen Gc1-1 die höchsten, Gc1-2 mittlere und Gc2-2 die niedrigsten Serumkonzentrationen an 25(OH)D₃ und VDBP (Lauridsen et al., 2005, Abbas et al., 2008). Dies wurde 2009 auch von einer weiteren Arbeitsgruppe nachgewiesen (Fang et al.). Der Parathormonspiegel zeigte dabei keine Varianz zwischen den unterschiedlichen Gc-Phänotypen (Fang et al., 2009). Obwohl in verschiedenen Studien

die Serumspiegel von 25(OH)D₃ stark variierten und Träger der Gc-2-Form insuffiziente Serumspiegel von < 50 nmol/L (< 20 ng/ml) zeigten, waren weder der Knochenmineralgehalt noch Knochendichte oder Knochenmarker auffällig. Auch konnte kein erhöhtes Frakturrisiko nachgewiesen werden (Abb. 15). Daher wird spekuliert, dass die geringeren Serumspiegel an VDBP und 25(OH)D₃ in Gc-2, verglichen mit den Gc-1-Phänotypen durch einen schnelleren Metabolismus, erhöhte Stoffwechselrate oder niedrigere Schwellenwerte ausgeglichen werden. Weiterhin ist es auch möglich, dass die verminderte Fähigkeit des Gc-2 Haplotyps, zum Gc-MAF zu konvertieren, für das verminderte Frakturrisiko ursächlich ist (Lauridsen et al., 2001, 2005, Fang et al., 2009). Eine Untersuchung von Sinott zeigte, dass die Haplotypen lediglich im Sommer den 25(OH)D₃-Serumspiegel wesentlich beeinflussen. Im Winter sind Vitamin D- und Kalziumaufnahme die entscheidenden und limitierenden Faktoren im Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen (Sinotte et al., 2009). Weitere SNP im VDBP, die nachweislich den 25(OH)D₃-Serumspiegel beeinflussen, sind rs2282679, rs12512631 und rs1155563 (Ahn et al., 2009, 2010, Bu et al., 2010, Hibler et al., 2012, Lu et al., 2012).

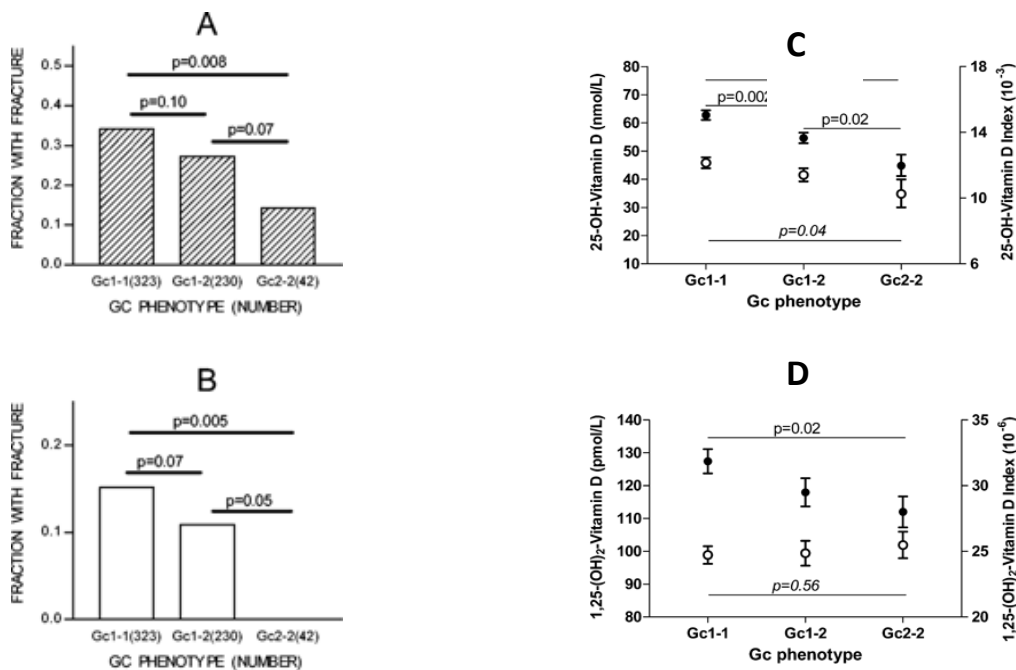


Abbildung 15:

Frakturrisiko und mittlere 25(OH)D₃-Serumkonzentration variieren je nach VDBP-Phänotyp

(A) Frequenz des Frakturrisiko bei Frauen (n = 595) mit unterschiedlichen VDBP (Gc)- Phänotypen. Alle Frakturen (n = 179). (B) Niedrig-Energie-Traumata (Frakturen) (n = 67) (Lauridsen et al. 2004, S. 18). (C) Median (SD) Plasma 25(OH)₂D (gefüllte Kreise) und 25(OH)₂D Index (offene Kreise) bei 585 Frauen mit unterschiedlichen VDBP-Phänotypen. (D) Mittlere (SD) Plasma 1,25(OH)₂D Konzentration (gefüllte Kreise) und 1,25(OH)₂D Index (offene Kreise) in 199 Frauen mit unterschiedlichen VDBP-Phänotypen (Lauridsen et al. 2005, S. 878)

1.7.4 Funktion des VDBP

Zu den Aufgaben des VDBP gehört neben dem Transport der Vitamin D-Metabolite die Aktinbindung, Bindung von Endotoxinen sowie der Fettsäuretransport. Als Makrophagen-aktivierender Faktor (VDBP/Gc-MAF) ist das VDBP an der Knochenresorption, sowie der Knochendichte-Regulation beteiligt und dient als Cofaktor für die Chemotaxis von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten (Speeckaert et al., 2006) (Abb. 16). Die Bedeutung des VDBP wird durch die Tatsache untermauert, dass bisher kein humaner VDBP- „knock out“ (-/-) entdeckt wurde (Cooke et al., 1989). Folglich ist das VDBP ein lebensnotwendiges Protein, dessen Abwesenheit letale Folgen hat.

Aktin ist ein hoch konserviertes Element des Zytoskeletts. Bei Gewebsverletzungen sowie Nekrosen wird intrazelluläres Aktin freigesetzt. Extrazelluläres Aktin polymerisiert, bindet in Blutgefäßen an Gerinnungsfaktor-V und aktiviert diesen. Der aktivierte Faktor-V triggert die intravasale-disseminierte Gerinnung. An der Bindedomäne II des VDBP werden, die durch Gelsolin in Monomere gespaltenen Aktinfilamente, gebunden und als VDBP/Aktin-Komplexe im retikuloendotheliale-System abgebaut. Dadurch wird die intravasale Gerinnung und ein Multiorganversagen (MODS) verhindert (Dahl, 2005, Meier et al., 2006).

Die Bindungsdomäne III enthält an Position 420 die Aminosäure Threonin, welche durch O-glykosidische Bindung mit einem Muzin-ähnlichen 3-fach-Zucker verbunden ist (N-Acetylgalactosamin, Galaktose und Sialinsäure). In vitro Studien zeigten, dass die membrangebundene β -Galaktosidase aktivierter T- und B-Lymphozyten die O-glykosidische Bindung entfernt (Yamamoto et al., 1993, 1996). Dadurch wird VDBP zum Makrophagen-aktivierenden Faktor (Gc-MAF) umgewandelt (Haddad, 1995, Kisker et al., 2003). Als Gc-MAF stimuliert es die Aktivität der Makrophagen sowie Osteoklasten und ist an der Regulierung der Knochenresorption beteiligt.

Nach Gewebsverletzungen wird Komplementfaktor C5 frei. Heute weiß man, dass die C5-vermittelte Chemotaxis von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten durch VDBP verstärkt wird (White et al., 2000). Beweisend dafür wurde in allen Isoformen des VDBP eine Bindungsstelle für den Komplementfaktor C5 nachgewiesen (Zhang et al., 2004). Bis heute ist der genaue Mechanismus der VDBP-vermittelten Chemotaxis nicht vollständig geklärt und nur wenige Daten sind verfügbar.

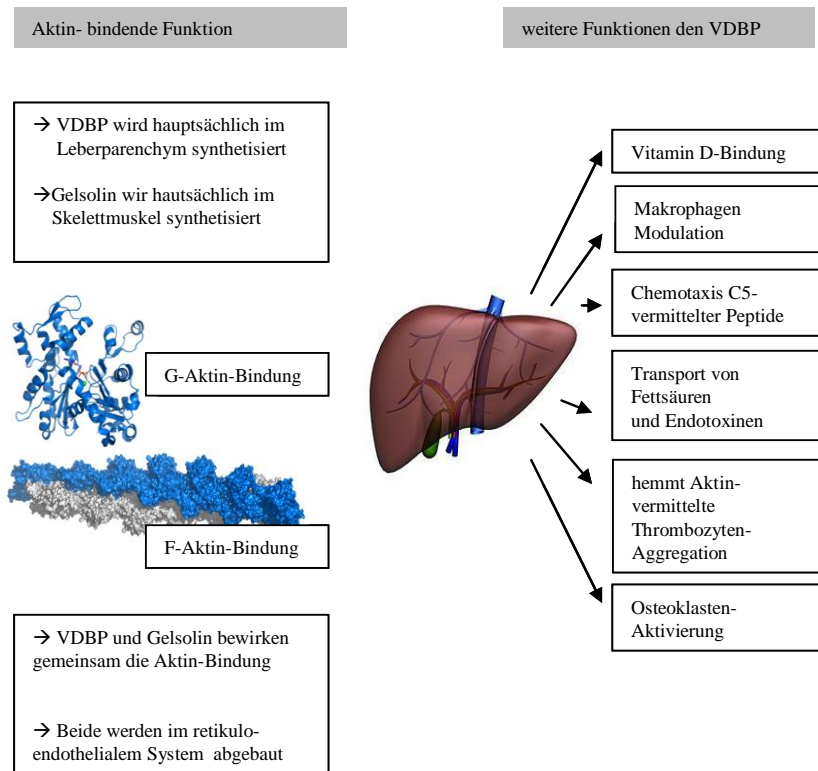


Abbildung 16:

Die multiplen Funktionen des VDBP (modifiziert nach Ursula Meier, *IGc-Globulin: Roles in Response to Injury*, 2006, S. 1250)

1.7.5 VDBP-Polymorphismen und Erkrankungen

Bisher wurden verschiedene Erkrankungen im Zusammenhang mit dem VDBP beschrieben. Darunter zählen Schilddrüsenerkrankungen, Osteoporose, Chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), Kolonkarzinom, Diabetes, Adipositas, AIDS, Multiple Sklerose, Rheumatisches Fieber und viele andere (Abbas et al., 2008, Fang et al., 2009, Flohil et al., 2010, Janssens et al., 2010, Poynter et al., 2010, Shen et al., 2010, Blanton et al., 2011, Schafer et al., 2012). Kürzlich wurde im Mausmodell bewiesen, dass der VDBP-MAF Tumor-Wachstum und -Angiogenese reduziert (Kisker et al., 2003). In aktuellen Studien wird bereits der mögliche Einsatz des VDBP als Biomarker für diverse Erkrankungen diskutiert (Huang et al., 2011, Kim et al., 2012). Auf das Osteoporose-Risiko wurde bereits im Kapitel 1.7.4 eingegangen.

Für die COPD stellt Rauchen das größte Risiko dar. Diese Erkrankung ist durch eine chronische Entzündung und Verengung der ausführenden Atemwege gekennzeichnet, wodurch es im Verlauf zur Emphysem-Bildung kommt. Da jedoch nur 15 % aller Raucher eine COPD entwickeln, war man auf der Suche nach weiteren Einflussfaktoren und genetischen Prädispositionen. Es konnte gezeigt werden, dass COPD Patienten häufig ein Vitamin D-Defizit aufweisen (Persson et al., 2012). Die

Ergebnisse genetischer Untersuchungen lassen die Annahme zu, dass dabei Assoziationen zu VDBP-Polymorphismen bestehen. Die Ergebnisse sind inhomogen, jedoch ist in den Studien ein Trend zu erkennen. Die Mehrheit der Studien zeigt ein gehäuftes Auftreten der Gc1-f Isoform bei COPD Patienten mit akut progredienten Krankheitsverlauf. Die Gc-2 Isoform kommt hingegen seltener in COPD Patienten vor und scheint einen pulmonal protektiven Effekt zu haben (Kueppers et al., 1977, Horne et al., 1990, Schellenberg et al., 1998, Ishii et al., 2001, Janssens et al., 2010). Eine sinnvolle Erklärung scheint dabei die Fähigkeit des VDBP zu sein, als Gc-MAF zu wirken. Gc-2 kann aufgrund des fehlenden Threonin an Position 420 nicht zum Gc-MAF konvertiert werden. Dies könnte die Inflammation in pulmonalem Gewebe verringern, sowie der Zerstörung von Lungengewebe durch Makrophagen und einer Emphysem-Bildung vorbeugen (Ishii et al., 2001).

1.8 Stoffwechselvorgänge die durch Vitamin D beeinflusst werden

Vitamin D ist nicht nur für den Kochen- und Kalziumstoffwechsel zuständig. Es steuert die Aktivität von Immunzellen (Makrophagen, B- und T-Zellen) und hemmt das Wachstum verschiedener Tumorzellen. Vitamin D hat über die β -Zellen des Pankreas und den Skelettmuskel Einflüsse auf die Regulation des Glukosespiegels. Es soll an der Blutdrucksenkung beteiligt sein und ein verbessertes HDL/LDL-Cholesterin-Verhältnis bewirken. Folglich wirkt es dem metabolischen Syndrom entgegen und zeigt kardioprotektive Wirkung (Abb. 17).

Im folgenden Teil wird auf die Mitwirkung des Vitamin D bei der Entstehung diverser Erkrankungen genauer eingegangen. Anschließend soll die Verbreitung des Vitamin D-Mangels aufgezeigt und Strategien zur Prävention erläutert werden.

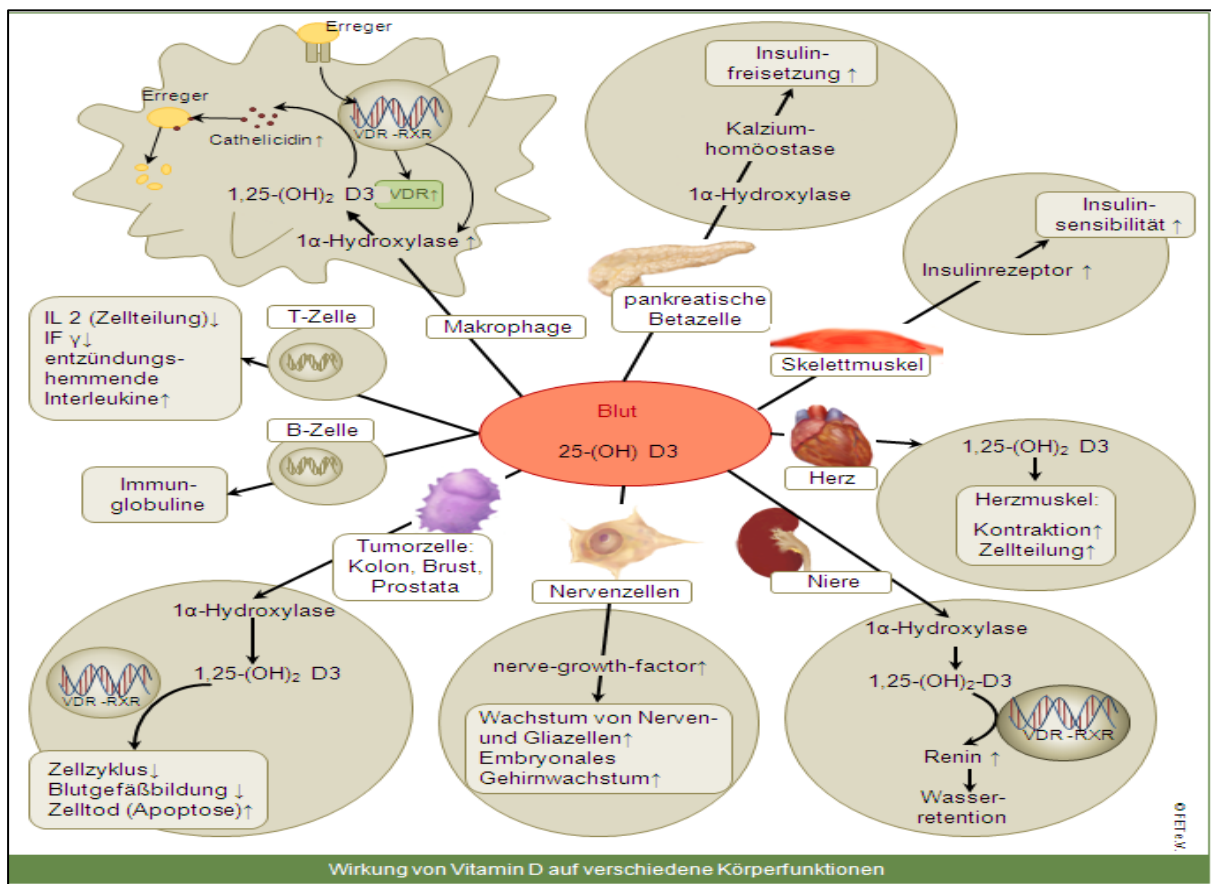


Abbildung 17:

Die vielfältigen Aspekte von Vitamin D im Stoffwechsel (*Fachgesellschaft für Ernährungstherapie und Prävention; Fachinfo: Vitamin D*)

1.8.1 Zellwachstum, Carcinogenese und Angiogenese

Je nach Zelltyp zeigt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wachstumshemmendes Potential und induziert Apoptose. Andererseits ist es in der Lage Zellen vor dem programmierten Zelltod zu schützen. Dies erklärt die Bedeutung und Rolle von Vitamin D in der Tumorgenese sowie dessen Prävention.

Das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR System vermag durch diverse Mechanismen den Zellzyklus zu beeinflussen. Es steigert unter anderem die Expression des Cyclin-abhängigen-Kinase-Inhibitor p21, welches einen Zellzyklusarrest in der G1-Phase zu induziert. Auch p27 eine weiterer Cyclin-abhängiger-Kinase-Inhibitor, wird durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vermehrt synthetisiert bzw. dessen proteosomaler Abbau verhindert (Kawa et al., 1997, Park et al., 2000, Dackiw et al., 2004). In Tumoren, deren Wachstum durch Überexpression von Wachstumsfaktoren erfolgt (transforming growth factor = TGF oder epidermal growth faktor-Rezeptor = EGF/R), bindet $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ den Liganden-aktivierten Rezeptor. Es folgt der Abbau im Endosom, wodurch das Wachstumssignal des aktivierten, membranösen Rezeptors

entfällt und ein unkontrolliertes Wachstum verhindert wird. Das hyperplastische Keratinozyten-Wachstum bei Psoriasis erfolgt TGF α gesteuert, folglich stellt eine Behandlung mit 1,25(OH) $_2$ D $_3$ -Analoge eine Therapieoption für Psoriasis-Patienten dar (Masuda et al., 2006). Ein anti-apoptotischer Effekt von 1,25(OH) $_2$ D $_3$ beruht auf einer direkten Hemmung der Caspase 3. Dies konnte bisher in mehreren Geweben nachgewiesen werden (Dusso et al., 2005).

Die Induktion der Apoptose durch 1,25(OH) $_2$ D $_3$ spielt eine bedeutende Rolle in der Prävention malignen Wachstums. In Krebszellen erfolgt die 1,25(OH) $_2$ D $_3$ -getriggerte Apoptose über Veränderungen im Konzentrationsverhältnis der pro- und anti-apoptotisch wirkenden Proteine Bax (proapoptotisch) und Bcl2 (antiapoptotisch). Auch die intrazelluläre Kalziumkonzentration kann durch 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ansteigen, wodurch pro-apoptotische Caspase-Kaskaden aktiviert werden (Wagner et al., 2003, Stewart et al., 2004). In Zelllinien des Mamma-Karzinoms steigert 1,25(OH) $_2$ D $_3$ die Expression von HOXA10, ein Protein, welches einen G1-Arrest auslösen kann. In Kolon-Karzinomzellen wurden ähnliche Effekte nachgewiesen (Masuda et al., 2006). Die Hemmung der Angiogenese scheint zumindest teilweise über den VDR geregelt zu sein. In einer Studie zeigten VDR (-/-) „knock out“ Mäuse, die mit Tumorzellen infiziert wurden, nach einer Inkubationszeit von 30 Tagen eine gesteigerte Angiogenese sowie eine größere Masse an malignen Zellen im Vergleich zur Wildtyp-Kontrollgruppe. Histologisch war dies auf größere Gefäßkalieber, geringere Podozytenzahlen sowie eine gesteigerte Durchlässigkeit der Gefäße (vascular leakage) zurück zuführen (Chung et al., 2009).

1.8.2 Maligne Erkrankungen

Schon vor mehreren Jahrzehnten entdeckte man, dass in höheren Breitengraden vermehrt Krebserkrankungen wie Mamma-, Prostata- und Kolonkarzinome sowie verschiedene andere maligne Erkrankungen auftraten. Man geht davon aus, dass insuffiziente 25(OH)D $_3$ -Serumspiegel die Inzidenz für maligne Erkrankungen erhöhen. Patienten mit Vitamin D-Mangel weisen eine schnellere Progredienz der Erkrankung und höhere Sterblichkeitsraten auf, im Vergleich zu Patienten mit optimalen 25(OH)D $_3$ -Serumspiegeln (Grant et al., 2002, Garland et al., 2006b, Giovannucci et al., 2006a, Giovannucci et al., 2006b). In verschiedenen Studien konnte inzwischen gezeigt werden, dass Patienten mit einem 25(OH)D $_3$ -Serumspiegel < 50 nmol/L (< 20 ng/ml) in den folgenden Jahren ein 30 - 50 % erhöhtes Karzinomrisiko aufweisen, welches durch die tägliche Einnahme von bis zu 1.000 IU Vitamin D reduziert werden kann (Garland et al., 1985, Ahonen et al., 2000, Giovannucci, 2006b, Giovannucci et al., 2006a). Die Risikoreduktion maligner Erkrankungen durch die Einnahme von 1.100 IU Vitamin D kombiniert mit 1400 mg Kalzium ergab eine Studie von Lappe (Lappe et al., 2007).

1.8.3 Immunmodulation

Vitamin D ist ein starkes immunmodulierendes Hormon. Einerseits steigert es die natürliche Immunantwort und schützt den Organismus vor pathogenen Keimen, andererseits hemmt es überschießende Immunreaktion des adaptiven Immunsystems. Dabei sind viele Immunzellen, u.a. Makrophagen, Dendritische Zellen sowie aktivierte B- und T-Lymphozyten in der Lage, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mithilfe der endogenen $1,\alpha$ -Hydroxylase zu synthetisieren (Monkawa et al., 2000, Fritsche et al., 2003).

Eine Verstärkung der angeborenen Immunantwort durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wird von mehreren Autoren in Zusammenhang mit Tuberkuloseinfektionen beschrieben. Die Immunantwort durch Phagozytose von pathogenen Keimen, beruht auf der Aktivierung des Toll-like-Rezeptors von Makrophagen oder Monozyten. Dies führt zur Expression des VDR sowie der $1,\alpha$ -Hydroxylase. Das endogen gebildete $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bindet an den VDR und verstärkt die Expression der Proteine Cathelicidin und LL-37 (Abb. 18). Beides sind stark bakterizid wirkende Agenzien, welche die Eliminierung der Erreger verstärken (Liu et al., 2006). Man geht weiterhin davon aus, dass auch die bakterizid wirkende Stickstoff-Monoxid-Synthetase durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aktiviert wird (Leandro et al., 2009).

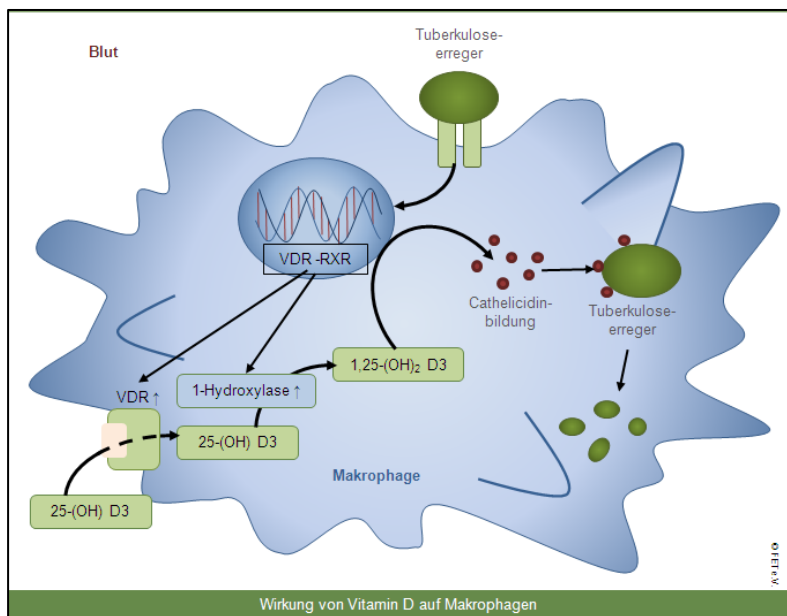


Abbildung 18:

Die VDR vermittelten, intrazellulären Mechanismen der Cathelicidin-Synthese in Makrophagen und Monozyten

(Fachgesellschaft für Ernährungstherapie und Prävention; Fachinfo: Vitamin D)

Der hemmende Effekt von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf die spezifische, erworbene und antikörper-vermittelte Immunantwort erfolgt ebenfalls VDR-vermittelt. Dabei wird die Reifung und Funktion der dendritischen Zellen (DC) sowie die Expression von MHC II Moleküle gehemmt, was zu einer verminderten T-Zellstimulation führt (Griffin et al., 2000, 2001). Weiterhin verschiebt sich mithilfe verschiedener Zytokine (Interferon γ und Interleukine wie z. Bsp. IL-12, IL-10, IL-2, IL4, IL5) die Immunantwort. Die Immunreaktion erfolgt weniger durch T1-Helfer-Zellen, sondern vermehrt durch

T2-Helfer-Zellen wodurch eine überschießende Produktion von Autoantikörpern inhibiert wird (Lemire, 2000, Boonstra et al., 2001, Leandro et al., 2009, Hewison, 2010). Im Tiermodell konnte nachgewiesen werden, dass eine Vitamin D-Supplementation die Bildung von Autoantikörpern reduziert und vor Autoimmunerkrankungen schützt (Lemire et al., 1991). Autoimmunerkrankungen, deren Genese auf ein Vitamin D-Defizit bereits untersucht wurden, sind Diabetes Mellitus Typ1, Multiple Sklerose, Morbus Crohn und rheumatoide Arthritis sowie autoimmune Schilddrüsenerkrankungen (Mathieu et al., 2005b, Holick, 2007b)

1.8.4 Insulin-Ausschüttung und Diabetes Mellitus

Die β -Zellen der Bauchspeicheldrüse (Pankreas) sind Bildungsort des Insulins und somit maßgeblich an der Blutzuckerregulation und -senkung beteiligt. Diabetes mellitus ist heute eine weit verbreitete Zivilisationskrankheit, welche mit erhöhten Blutglukosewerten einhergeht. Man unterscheidet den autoimmunbedingten Diabetes mellitus Typ1 (T1DM), welcher auf der Zerstörung der β -Zellen beruht und den Diabetes Typ2 (T2DM). Der T2DM ist gekennzeichnet durch eine periphere Insulinresistenz, welcher im Verlauf der Erkrankung die Dekompensation der β -Zellen folgt.

Für den autoimmunbedingten T1DM konnte gezeigt werden, dass Kinder und Jugendliche mit einem neu aufgetretenem T1DM häufig Vitamin D-Defizite zeigten (Borkar et al., 2010). Eine Studie ergab, dass die Supplementation von 2.000 IU Vitamin D im ersten Lebensjahr, das Risiko in den nächsten 31 Jahren an T1DM zu erkranken, um 78 % reduziert (Hypponen et al., 2001). Möglicherweise beruht dies auf der bereits beschriebenen immunmodulatorischen Wirkung adäquater 25(OH) D_3 -Serumspiegel (Mathieu et al., 2004, Mathieu et al., 2005a, Mathieu et al., 2005b).

Es gibt diverse Expertenmeinungen über die Pathomechanismen und Bedeutung des Vitamin D-Mangels in der Ätiologie des T2DM. Einige suggerieren, suffiziente Vitamin D-Level führen zu einer gesteigerten Insulinsekretion und erhöhen die periphere Insulinsensitivität. Die genauen Mechanismen sind bis heute unklar, Studienergebnisse uneinheitlich und randomisierte, placebo-kontrollierte Studien fehlen (Alvarez et al., 2010a, Alvarez et al., 2010b). Es gibt Forschungsergebnisse die darauf hindeuten, dass der 25(OH) D_3 -Serumspiegel mit den Insulin- und Glukosespiegeln korreliert (Chiu et al., 2004, Bonny, 2005). Die β -Zellen exprimieren die 1, α -Hydroxylase und sind in der Lage das aktive 1,25(OH) $_2D_3$ selbst herzustellen (Bland et al., 2004). Sie verfügen über den VDR, dessen VDRE in der Promotorregion des Insulin-Genes lokalisiert ist (Johnson et al., 1994, Maestro et al., 2003). Dies lässt die Vermutung zu, dass 1,25(OH) $_2D_3$ an der Transkription des Insulingenes regulatorisch beteiligt ist. Experten gehen weiterhin davon aus, dass die Ausschüttung von Insulin z.T. durch Vitamin D gesteuert wird. Die Insulinsekretion erfolgt durch einen hyperpolarisations-induzierten, intrazellulären Kalziumüberschuss. Da Vitamin D via Calbindin die intrazellulären Kalziumspiegel beeinflusst, ist es möglich, dass Vitamin D an der Sekretion von Insulin indirekt beteiligt ist. Eindeutige Ergebnisse über den genauen Mechanismus sind jedoch bis heute nicht

bekannt (Alvarez 2010). Muskel- und Fettzellen besitzen ebenfalls einen VDR. In ihnen wird die Expression des Insulinrezeptors direkt durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aktiviert. All diese Forschungsergebnisse lassen vermuten, dass Vitamin D den insulinsteuerten Glukosetransport verbessert, die Insulinsensitivität erhöht, und zur Senkung des Blutzuckerspiegel beiträgt (Simpson et al., 1985, Maestro et al., 2002).

1.8.5 Knochenabbau, Osteoporose-Risiko und Fallneigung

Osteoporose und Osteomalazie beruhen auf dem Osteoklasten-vermittelten Abbau der mineralisierten Kollagenmatrix. Induziert wird er durch erhöhte Parathormonspiegel, aufgrund eines Vitamin D- und Kalziummangels. Oft resultiert der Abbau an Knochensubstanz in einem erhöhten Knochenbruch-Risiko. Sinterungsbrüche der Wirbelkörper, Oberschenkelhalsfrakturen, distale Radiusfrakturen sowie die subkapitale Humerusfraktur sind die Folge. Aufgrund der steigenden Lebenserwartung ist die Lifetime-Prävalenz für Frakturen bei Frauen 47 % und 22 % bei Männern (Boonen et al., 2006). Insbesondere Frauen nach der Menopause und Personen über 60 Jahre haben ein erhöhtes Osteoporose-Risiko. Eine Arbeitsgruppe in Finnland zeigte bereits bei jungen Mädchen einen Zusammenhang von niedrigen $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Serumspiegeln, erhöhten Parathormon-Werten und verminderter Knochendichte (Cheng et al., 2003). In unterschiedlichen randomisierten, placebo-kontrollierten Studien wurde nachgewiesen, dass eine Supplementation mit Vitamin D +/- Kalzium das Frakturrisiko um 20 – 30 % reduziert (zitiert nach Kazai 2008). Muskelzellen besitzen den VDR und sind auf suffiziente Vitamin D-Serumspiegel angewiesen. Ein Mangel an Vitamin D in der Muskulatur macht sich durch Muskelschwäche und erhöhter Fallneigung bemerkbar (Holick, 2007b). Ansteigende Vitamin D-Serumspiegel führen nachweislich zu einer kontinuierlichen Steigerung der Kontraktilität und Kontraktionsgeschwindigkeit des Muskels (Bischoff-Ferrari et al., 2006). Weiterhin wurde gezeigt, dass sich die Fallneigung von Bewohnern in Altenheimen durch Gabe von 800 IU Vitamin D plus Kalzium um 60 – 70 % reduziert (Bischoff-Ferrari et al., 2006, Broe et al., 2007).

1.8.6 Fettstoffwechsel

Bisher wurden nur wenigen Studien durchgeführt, die Veränderungen im Lipoproteinstoffwechsel im Zusammenhang mit $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ untersuchten. Einige davon zeigten, eine Korrelation zwischen den ansteigenden $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Serumspiegeln und einem sinkenden LDL/HDL-Index. (Wang et al., 2008, Osmancevic et al., 2009). Hohe LDL-Cholesterinspiegel stellen u.a. einer der Hauptrisikofaktoren für Arteriosklerose dar. Bisher mangelt es jedoch an Studien die untersuchen, ob eine Vitamin D-Supplementation in der Lage wäre das Arteriosklerose-Risiko relevant zu senken.

1.8.7 Reninsynthese und Blutdruckregulation

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) steuert die Blutdruckregulation, Elektrolythaushalt und Volumenhomeostase. Bei Volumenmangel wird Renin in der Niere gebildet.

Renin induziert via Angiotensin II und Aldosteron die Natrium- und Wasser-Rückresorption, und trägt somit zum Anstieg des Blutdruckes bei. Verschiedene Studien zeigten, dass 25(OH)D₃-Serumspiegel von < 20 ng/ml mit einem Anstieg der Plasma-Renin-Aktivität, der Angiotensin-II-Konzentration und Hypertonie vergesellschaftet sind (Krause et al., 1998, Li, 2003, Li et al., 2004, Hintzpeter et al., 2008a). Eine Studie publizierte, dass durch den Anstieg des 25(OH)D₃-Serumspiegels um 180 % (UVB-Licht induziert) der systolische und diastolische Blutdruck um 6 mmHg gesenkt werden kann (Krause et al., 1998). Die Studienergebnisse dazu sind jedoch inhomogen und z. T. widersprüchlich (Forman et al., 2005). So konnten diese Effekte in kleinere Studien in Deutschland und Niederlande nicht reproduziert werden (Snijder et al., 2007).

1.8.8 Muskulatur, Herz-Kreislaufferkrankungen und kardiovaskuläres Risiko

Der Herzmuskel profitiert ebenso von einem suffizienten Vitamin D-Status. Der kardio-protective Effekt von Vitamin D wurde bisher in mehreren Studien untersucht. Genaue Mechanismen sind noch immer unklar, doch es existieren viele potentielle Hypothesen dazu. Eine davon ist der hemmende Effekt von Vitamin D auf das RAAS. Dadurch beugt Vitamin D der kardialen Hypertrophie, welche durch chronischen Hypertonus bedingt ist, vor. Gleichzeitig wirkt es dem Angiotensin II-vermitteltem, kardiale Remodelling entgegen. Sinkende Cholesterin- und Blutglukosewerte wirken sich zusätzlich positiv auf das Arteriosklerose-Risiko und der Koronaren Herzerkrankung (KHK) aus. Konklusiv senkt Vitamin D die kardiale Gesamtmortalität (Grimes, 2006, Zittermann, 2006, Dobnig et al., 2008, Gouni-Berthold et al., 2009).

1.9 Vitamin D-Mangel: Definition und Prävalenz

Einen Vitamin D-Mangel definieren Experten derzeit ab 25(OH)D₃-Serumwerte unter 20 ng/ml (50 nmol/l), zwischen 21 - 29 ng/ml spricht man von einem relativen Vitamin D-Mangel (Holick, 2007b). Eine optimale 25(OH)D₃-Versorgung ist ab 30 ng/ml (75 nmol/l) gewährleistet. Bei 25(OH)D₃-Serumspiegeln über 30 ng/ml erreicht die Parathormon-Konzentration ihren Tiefpunkt (Abb. 19), während die intestinale Kalzium-Aufnahme ihre maximale Kapazität erlangt. Eine Hypervitaminosis D ist ab Serumspiegel von 160 – 500 ng/ml definiert (Thomas et al., 1998, Holick, 2007b). Wird diese Definition verwendet, leiden weltweit 1 Milliarde Menschen an einem Vitamin D Mangel. In den Vereinigten Staaten haben 40 - 100 % der älteren Personen ein Vitamin D-Defizit. Weiterhin zeigen, 50 % der postmenopausalen Frauen, trotz oraler Osteoporose-Prävention 25(OH)D₃-Serumspiegel von < 20 ng/ml (Holick, 2007b). Laut Zittermann sind in Deutschland derzeit 40 - 45 % der Bevölkerung ungenügend mit Vitamin D versorgt (10 - 20 ng/ml), weitere 15 - 30 % leiden an einem manifesten Vitamin D-Mangel (< 10 ng/ml) (Zittermann, 2010). Auf bis zu 75 % steigt die Prävalenz des Vitamin D-Mangel bei älteren Menschen zwischen 65 - 79 Jahren (Hintzpeter et al., 2008a). Laut einer Veröffentlichung der „Deutschen Gesellschaft für Ernährung“ (DGE) ist der Vitamin D-Mangel in

Deutschland z.T. noch ausgeprägter, als in den Arbeiten von Zittermann und Hintzpeter beschrieben (J Linseisen et al. 2011), (Tab. 3). Eine belgische Studie zeigte, dass 74,1 % der schwangeren Frauen in Belgien 25(OH)D₃-Serumspiegel unter < 30 ng/ml und 44,6 % der Frauen Werte < 20 ng/ml aufweisen (Vandevijvere et al., 2012). Eine positive Korrelation zwischen maternalen Vitamin D-Mangel und den 25(OH)D₃-Serumspiegel des Neugeborenen ist ebenfalls erwiesen (Lee et al., 2007).

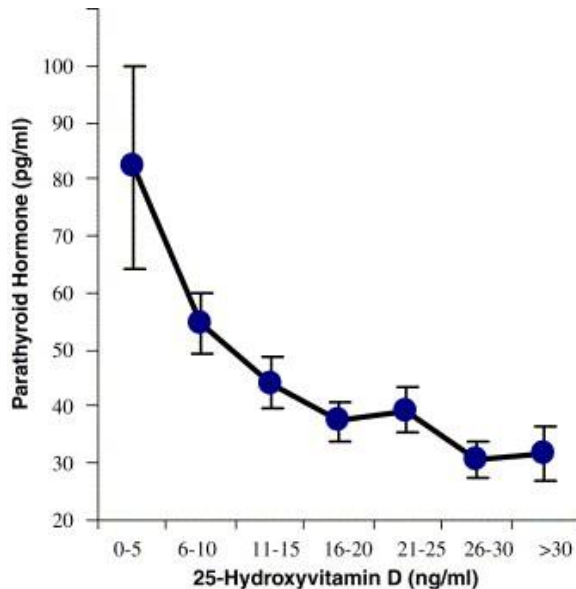


Abbildung 19:

Korrelation von 25(OH)D₃-Serumspiegel und Parathormonkonzentration. Sinkt der 25(OH)D₃-Serumspiegel ≤ 30 ng/ml steigt die mittlere Parathormonkonzentration an.

(übernommen von Thomas et al, 1998).

Tabelle 3:

25-Hydroxyvitamin D-Serumkonzentrationen in Deutschland, klassifiziert nach Alter und Häufigkeit (Quelle: unveröffentlichte Daten des Robert Koch-Instituts aus der Stellungnahme der DGE von Lindseisen et al. 2011)

Vitamin D-Versorgung	25(OH)D ₃ in ng/ml	25(OH)D ₃ in nmol/l	Alter < 17 Jahre	Alter 18 - 79 Jahre
Manifester Mangel	5	< 12,5	3,8 %	2,0 %
	5 - 10	12 - 25	15,5 %	14,3 %
	10 - 20	25 - 50	43,7 %	41 %
Relativer Mangel	20 - 30	50 - 75	22,8 %	20,8 %
Optimale Versorgung	> 30	> 75	14,6 %	21,9 %

1.10 Vitamin D-Mangel: Ursachen

Da in unserer Nahrung sehr wenig Vitamin D enthalten ist und Lebensmittel in Deutschland nicht mit Vitamin D supplementiert sind, müssen mehr als 90 % des Vitamin D-Bedarfs in der Haut synthetisiert werden. In Regionen über dem 35. Breitengrad ist die Sonnenintensität jedoch

insbesondere im Winter zu gering, um eine adäquate dermale Vitamin D-Synthese zu gewährleisten. Dunkelhäutige Personen sind, aufgrund des hohen Melanin-Gehaltes ihrer Haut, noch stärker von einem Vitamin D-Mangel betroffen als hellhäutige Bewohner des gleichen Breitengrades (Webb et al., 1988, Gordon et al., 2004, Sullivan et al., 2005). Des Weiteren haben verschleierte Frauen in islamischen Ländern und Bewohner sonnenreicher Regionen, welche sich durch ihre Kleidung vor starker Sonneneinstrahlung schützen, Vitamin D-Defizite (Lips, 2007). Lediglich Menschen, die in Äquatornähe leben und sich nicht durch Kleidung der Sonneneinstrahlung entziehen, weisen 25(OH)D₃-Serumwerte von 32 ng/ml und mehr auf.

Durch ihren höheren Bedarf sind Schwangere und stillende Frauen besonders stark von einem Vitamin D-Mangel betroffen (Lee et al., 2007). Ebenso weisen gestillte Säuglinge, aufgrund des geringen Vitamin D-Gehaltes der Muttermilch (25 bis 40 IU/L = 0.6 – 1 mg/L), Defizite in der Vitamin D-Versorgung auf (Hollis et al., 2004). Chronisch nierenkranke Patienten, mit einer glomerulären Filtrationsrate von weniger als 30 ml/min, und Dialysepatienten haben aufgrund der fehlenden renalen 1,25(OH)₂D₃-Synthese einen Vitamin D-Mangel, der ohne entsprechende Therapie zu sekundären Hyperparathyreoidismus und Osteoporose führen kann. Ebenso zeigen Leberkranke Patienten oder Patienten mit intestinale Fett-Absorbtionssyndrom häufig einen Vitamin D-Mangel. Auch medikamentöse Therapien mit Glukokortikoiden, antikonvulsiven Medikamenten und Steroidrezeptor-induzierenden Substanzen erfordern eine erhöhte Vitamin D-Gabe (Thomas et al., 1998). Des Weiteren konnte ein Vitamin D-Mangel bei adipösen Personen festgestellt werden. Da Fettgewebe in der Lage ist, Vitamin D zu speichern, steht dieses dem Serumspiegel nicht mehr zur Verfügung, wodurch es zum Abfall der 25(OH)D₃-Serumspiegel und zu Mangelercheinungen kommen kann. Inwieweit bei adipösen Personen eine verminderte Aktivität im Freien einen Beitrag am Vitamin D-Defizit hat, ist umstritten (Gilbert-Diamond et al., 2010, Lagunova et al., 2010).

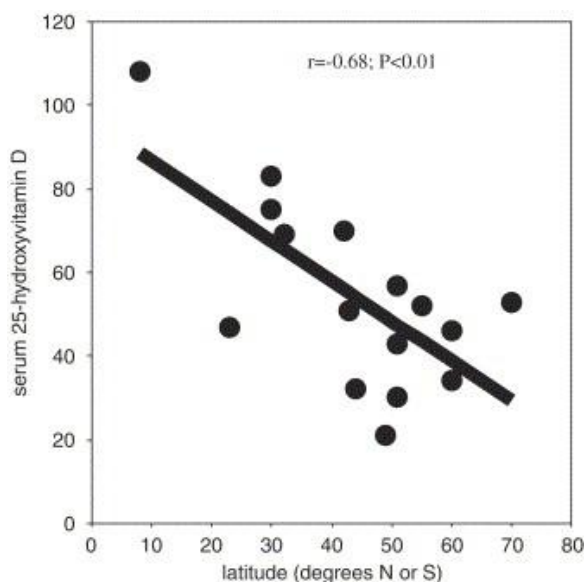


Abbildung 20:

Die mittleren 25(OH)D₃-Serumspiegel sinken in höheren geografischen Breitengraden ab (übernommen von Zittermann et al., 2005).

1.11 Vitamin D-Substitution

Zur Optimierung des 25(OH)D₃-Spiegels stehen die orale Substitution mit Vitamin D₂ oder D₃, sowie die UV-Therapie zur Verfügung.

1.11.1 Orale Vitamin D-Substitution

Da Vitamin D-Mangel ein weltweites Problem darstellt, wird die orale Substitution immer wichtiger. Laut der DGE sind folgende Lebensmittel reich an Vitamin D: (Tab. 4, 5)

Tabelle 4: Vitamin D-Gehalt verschiedener Lebensmittel je 100g (laut DGE)

<i>Hering</i>	23 µg*
<i>Thunfisch</i>	5 µg*
<i>Margarine</i>	2,5 µg*
<i>Milch</i>	0,09 µg*

Tabelle 5: *Umrechnungstabelle Vitamin D-Dosen (1 µg = 40 IE/IU; 1 IE/IU = 0,025 µg)

<i>IE/IU</i>	<i>200</i>	<i>400</i>	<i>600</i>	<i>800</i>	<i>1000</i>	<i>1400</i>
<i>µg</i>	<i>5</i>	<i>10</i>	<i>15</i>	<i>20</i>	<i>30</i>	<i>40</i>

Sowohl die DGE als auch die WHO („World Health Organisation“) empfehlen eine Vitamin D-Tagesdosis von 5 - 10 µg oder 200 - 400 IU/d. Diverse Studien untersuchten, das Osteoporose-Risiko nach Vitamin D-Gabe. Die Mehrheit der Arbeiten zeigt, dass erst durch die regelmäßige Einnahme von 700 - 800 IU Vitamin D in Verbindung mit 500 - 1000 mg Kalzium das Osteoporose-Risiko gesenkt werden kann. Dosen von 400 IU Vitamin D wiesen häufig keinen Effekt auf das Frakturrisiko auf, da sie den 25(OH)D₃-Serumspiegels nicht ausreichend erhöhen. Der 25(OH)D₃-Serumspiegel muss unter oraler Vitamin D-Substitution auf über 26 ng/ml ansteigen, ansonsten bleibt eine Reduktion des Osteoporose-Risikos aus (Chapuy et al., 1995a, Chapuy et al., 1995b, Dawson-Hughes et al., 1997, Porthouse et al., 2005, Bischoff-Ferrari, 2007, Holick, 2007a). Experten gehen heute davon aus, dass eine Tagesdosis von 800 - 1000 IU Vitamin D für nahezu alle Altersklassen empfehlenswert ist. In nördlichen Breitengraden reichen eine gesunde Ernährung und Sonnenexposition selten aus, um eine adäquate Vitamin D-Versorgung sicher zu stellen. Folglich sollte insbesondere im Winter eine orale Supplementation erfolgen. Tabelle 6 zeigt die aktuellen Referenzwerte der DGE von 2012 zur Vitamin D-Supplementation. Die Äquivalenz von Vitamin D₂ und D₃ in ihrer Wirkung, wurde lange Zeit kontrovers diskutiert (Trang et al., 1998). In einer randomisierten, placebo-kontrollierten Doppelblindstudie wurde nun die Gleichwertigkeit beider Substanzen nachgewiesen (Holick et al., 2008).

Tabelle 6: Referenzwerte zur Vitamin D- Supplementation (DGE von 2012)

<i>Altersklasse</i>	<i>Optimale 25(OH)D₃-Serumspiegel</i>	<i>Vitamin D Zufuhr Tagesdosis</i>
<i>Säuglinge</i>	20 ng/ml (50 nmol/l)	10 µg
<i>Kinder</i>	≥ 20 ng/ml (50 nmol/l)	5-10 µg [20 µg]*
<i>Jugendliche und Erwachsene</i>	≥ 20 ng/ml (50 nmol/l)	20 µg
<i>Erwachsene > 65 Jahren</i>	≥ 20 ng/ml (50 nmol/l)	20 - 25 µg
<i>Schwanger und Stillende</i>	k.A.	20 µg

* Empfehlung der Tagesdosis bei fehlender Sonnenexposition

k.A.: keine Angaben

1.11.2 Vitamin D-Substitution via UV-Strahlung

Die UV-Therapie stellt ebenfalls eine Methode dar, um die Vitamin D-Spiegel effektiv zu steigern. In der Psoriasis-Therapie sowie bei anderen Hauterkrankungen, wird die Lichttherapie seit Jahren erfolgreich angewandt (Fischer et al., 1984, Berneburg et al., 2005a). Aufgrund der nebenwirkungsfreien, oralen Supplementation wird jedoch von einer alleinigen UV-Therapie zur Erhöhung des Vitamin D-Spiegels abgeraten (Langdahl et al., 2012).

Das für den Menschen sichtbare Licht hat eine Wellenlänge von 380 - 760 nm. Kürzere Wellenlängen (100 - 400 nm) kennzeichnen das unsichtbare, ultraviolette Licht (UV-Licht), während der Infrarotbereich durch Wellenlängen von 780 nm bis 1 mm definiert ist. UV-Licht ist als elektromagnetische Strahlung ein Bestandteil des Sonnenlichtes und wird je nach Wellenlänge in UVC (100 - 280 nm), UVB (280 - 315 nm) und UVA (315 - 400 nm) unterschieden (ISO-21348). Aufgrund der unterschiedlichen Wellenlängen der UV-Spektren, variieren Eindringtiefe und Wirkung in der Haut. Langwelliges UVA-Licht besitzt eine größere Eindringtiefe als kurzwelliges UVB-Licht (Berneburg et al., 2005b) (Abb. 21). Sehr kurzwellige UVC-Strahlen, werden bereits in der Atmosphäre absorbiert, und haben keinen Effekt auf die Dermis. UVB-Licht dringt bis in die Epidermis (Oberhaut) vor und induziert dort, durch verstärkte Melaninbildung, die verzögerte, langfristige Pigmentierung und Bräunung der Haut. In der Basalzellschicht bewirkt es die Bildung von Vitamin D und führt in hohem Dosis zum Erythem (Hautrötung und Sonnenbrand) und induziert DNA-Schäden in Form von Thymidin-Dimeren (Maddodi et al., 2012). Übermäßige Exposition und Sonnenbrände sollten deshalb insbesondere in der Kindheit vermieden werden. Sie können zu Keratosen (Hautkrebsvorstufen) und Hautkrebs führen. Langwelliges UVA-Licht dringt bis in die Dermis (Lederhaut) ein. Es induziert die Sofortpigmentierung der Haut durch Verdunklung des vorhandenen Melanins und trägt aufgrund der Zerstörung von Kollagenfasern zur Hautalterung bei. Früher nahm man an, UVA-Licht sei nur für die Hautalterung verantwortlich, heute weiß man, dass UVA-Strahlung ebenso wie UVB-Strahlung in der Lage ist, DNA-Schäden zu verursachen (Runger,

2008, Huang et al., 2009). Es besitzt jedoch im Vergleich zu UVB-Strahlung eine 1000-fach geringere erythemale Wirkung (Campbell et al., 1993).

Studien zeigen eine positive Korrelation zwischen der UVB-Dosis und dem Anstieg des 25(OH)D₃ Serumspiegels. Dabei vermag bereits eine geringe Gesamtdosis von 1,5 SED (= 150 J/m²) den mittleren 25(OH)D₃-Serumspiegel im Durchschnitt um 14,2 nmol/l anzuheben (Bogh et al., 2011b). Durch eine Ganzkörperbestrahlung mit 1 MED (minimale erythemale Dosis) werden in der Haut hellhäutiger Personen bis zu 20.000 IU Vitamin D gebildet (Chen et al., 2007, Holick et al., 2007, Cannell et al., 2008). Maßgeblich für den Anstieg der 25(OH)D₃-Serumwerte sind dabei die UV-Dosis, der Baseline-25(OH)D₃-Wert sowie die Serum-Cholesterinspiegel und das Alter. Die Körperoberfläche und UV-Expositionszeit seien hingegen von untergeordneter Rolle (Holick et al., 1981, Clemens et al., 1982, Chen et al., 2007, Bogh et al., 2010, Bogh et al., 2011b, Bogh et al., 2011a, Bogh, 2012). Über die Bedeutung des Hauttyp und der Hautpigmentation gibt es bisher keine einheitlichen Studien (Clemens et al., 1982, Bogh et al., 2010). Neue Studien postulieren ein Absinken der 25(OH)D₃-Serumspiegel nach alleiniger UVA-Bestrahlung (Godar et al., 2009, Langdahl et al., 2012). Welche Mechanismen dabei zum Absinken der Vitamin D-Spiegel führen sollen, ist bisher unklar.

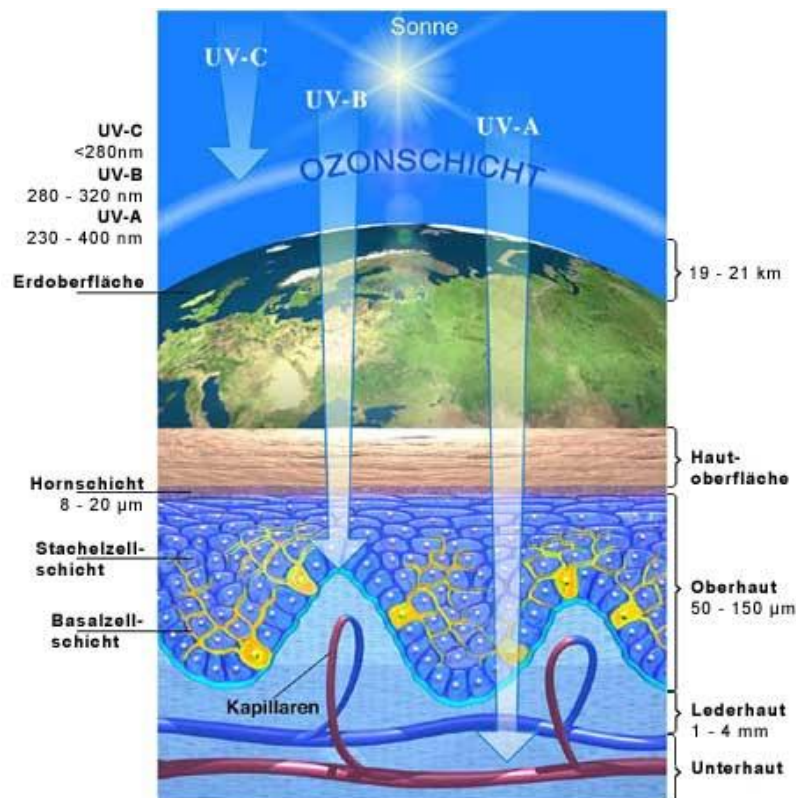


Abbildung 21:

Eindringtiefe von UV-Strahlung in die Haut (Deutsche Krebshilfe e.V., 2007)

1.12 Unterschiedliche UV-Bestrahlungssysteme

In der UV-Therapie gibt es diverse UV-Bestrahlungssysteme. Dabei unterscheidet man das UVB-Breitspektrum (bUVB) mit 280 - 320nm vom UVB-Schmalspektrum (nUVB) zwischen 310 und 315 nm dessen maximaler Peak bei 311 nm liegt. Eine weitere Therapieoption stellt das UVA-Licht dar, sowie viele verschiedene Kombinationsmöglichkeiten (z.B. nUVB als Monotherapie oder in Kombination mit Vitamin D-Analoga, Psoralene oder Retinoiden; UVA/UVB-Kombinationstherapie) (Berneburg et al., 2005a).

Das bUVB wird bereits viele Jahrzehnte in Therapie von Hauterkrankungen eingesetzt. Der therapeutische Effekt wird hauptsächlich der immunmodulatorischen Wirkung zugeschrieben. UVB-Licht hemmt die natürlichen Killerzellen der Haut sowie die Ausreifung der Lymphozyten. Ebenfalls verhindert es eine überschießende Ausschüttung inflammatorischer Zytokine. Es wird insbesondere bei stammbetonter Psoriasis angewendet (Dogra et al., 2004).

Das nUVB ist definiert durch eine Wellenlänge von 310 – 315 nm. Die erythemale Wirkung des UVB-Lichtes sowie die Vitamin D-Produktion ist zwischen 280 - 300 nm am potentesten. nUVB besitzt ein geringeres erythemales Potential (Abb. 23), während eine bUVB Therapie einen stärkeren Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel induziert als nUVB (Osmancevic et al., 2008) (Abb. 23). Dabei zeigte das nUVB einen gleichen oder besseren therapeutischen Effekt auf Psoriasis-Plaques sowie stärkere immunmodulatorische Effekte als das bUVB-Spektrum (Berneburg et al., 2005b). Einige Autoren fanden sowohl mittels in vivo, als auch in vitro Studien, ein gesteigertes karzinogenes Risiko durch nUVB (Flindt-Hansen et al., 1991, Wulf et al., 1994, Gibbs et al., 1995, Kirke et al., 2007, Kunisada et al., 2007). Anderen Autoren konnten diese Ergebnisse jedoch nicht bestätigen (Archier et al., 2012). Eine Hautrötung tritt im nUVB Bereich jedoch (je nach Literaturquelle) erst nach bis zu 15-fach höheren Dosen auf, als im bUVB (Kunisada et al., 2007). Dadurch ist es möglich, dass aufgrund fehlender Erythem-Bildung fälschlicherweise zu hohe Energiedosen verabreicht werden (Abb. 22). Wird nUVB jedoch in suberythemalen Dosen und verantwortungsvoll eingesetzt, ist es neben dem UVB-Breitspektrum eine zuverlässige und nebenwirkungsarme Therapieoption bei Erkrankungen wie Psoriasis, Vitiligo, Mycosis fungoides und Atopischer Dermatitis.

UVA-Licht wird hauptsächlich als Psoralen plus UVA, als sogenannte PUVA-Therapie angeboten. Psoralen (8-Methoxypsoralen) ist eine photosensibilisierende Substanz, die chemisch dem Cumarin ähnelt. Psoralen wird lokal (Creme oder Badezusatz) oder systemisch bei unterschiedlichsten Erkrankungen (Pruritus, Psoriasis, Lichen ruber planus, Neurodermitis) verabreicht. Besonders bei hoch akuten Psoriasis-Schüben, bei Extremitäten-betonter-Psoriasis und Patienten, die ungenügend auf alleinige nUVB ansprechen, ist die systemische PUVA-Therapie eine wirksame Therapieoption (Berneburg et al., 2005b).



Abbildung 22:

nUVB zeigt ein geringeres erythemales Potenzial als bUVB. Die MED bei Albino-Nacktmäusen liegt bei nUVB mehr als doppelt so hoch wie bei bUVB. Hierdurch können bei einer nUVB-Therapie leicht zu hohe Dosen verabreicht, da die Erythembildung geringer ausfällt.

Links: bUVB zeigt MED bei $170\text{mJ}/\text{cm}^2$ Rechts: nUVB zeigt MED bei $370\text{mJ}/\text{cm}^2$

(Makoto Kunisada et al; Narrow-Band UVB Induces More Carcinogenic Skin Tumors than Broad-Band UVB through the Formation of Cyclobutane Pyrimidine Dimer; Journal of Investigative Dermatology (2007) 127, 2865–2871;)

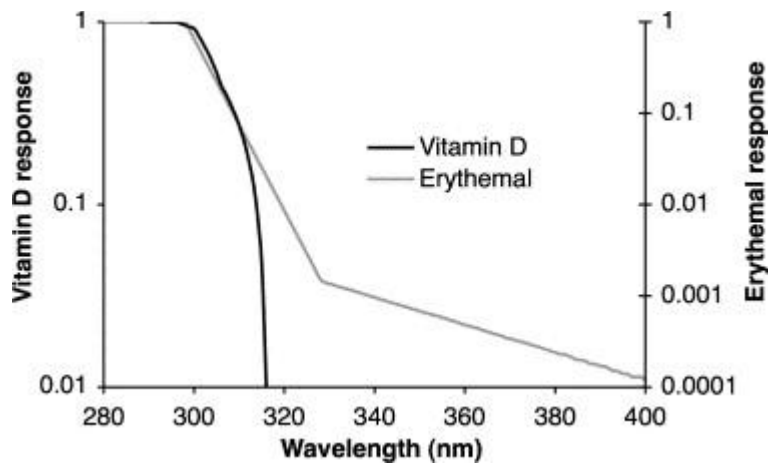
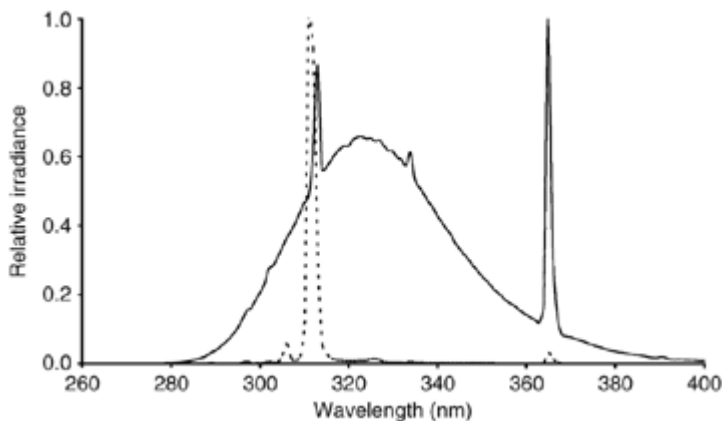


Abbildung 23:

Oben: Dermales Aktionsspektrum der Vitamin D-Produktion und Erythementwicklung

(Bodo Lehmann&Michael Meurer; Vitamin D metabolism; Dermatologic Therapy, Vol. 23, 2010, 2–12)



Unten: Wellenlänge von UVB-Schmal und UVB-Breitbandspektrum (Kirke et al., 2007, S. 1642)

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

In der vorliegenden Studie wurden die Daten von 57 Patienten mit nUVB- und PUVA Behandlung erhoben und analysiert. Diese waren im Zeitraum von November 2009 bis Mai 2010 in der Universitätshautklinik Homburg in stationärer oder ambulanter Behandlung. Aufgrund der bereits in der Einleitung erwähnten jahreszeitlichen Schwankungen des Vitamin D-Serumspiegels wurde die klinische Datenerhebung zunächst lediglich bis April 2010 geplant. Diese konnte jedoch aufgrund der schlechten Wetterlage, mit auffallend wenigen sonnigen Tagen, bis Mai ausgedehnt werden. Die Patienten wurden unabhängig von ihrer dermatologischen Grunderkrankung für die Studie ausgewählt. Als Kontrollgruppe für die Genotypisierungen dienten 192 weibliche und 192 männliche gesunde Probanden, mit einem Lebensalter unter 30 Jahren. Die DNA-Proben der Kontrollgruppe wurden von der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Ulrich Mahlnecht aus der Klinik für Innere Medizin I (Onkologie, Hämatologie, Klinische Immunologie und Rheumatologie) der Universitätsklinik des Saarlandes zur Verfügung gestellt.

2.2 Ethikkommission

Der Studienplan wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes genehmigt. Die Studie gliedert sich in einen klinischen und in einen laborchemischen Teil. Vor Studienbeginn wurden die Probanden, durch die im Anhang aufgeführte Probandeninformation, schriftlich sowie mündlich in einem persönlichen Gespräch über die Zielsetzung und Versuchsdurchführung der Studie informiert. Die Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Durchführung der Untersuchung sowie zum Datenschutz und bestätigten damit, dass sie über Sinn, Zweck und Nutzen-Risiko-Relation umfassend aufgeklärt wurden.

2.2.1 Patientenfragebogen

Die Patientendaten wurden aus dem Anamnesegespräch und den Patientenakten entnommen. Zusätzlich wurden die Patienten in einem eigens für diese Studie entworfenen, standardisierten Fragebogen (siehe Anhang), über gewöhnliche Verhaltensweisen und anamnestisch bedeutende Details befragt. Im Rahmen des Patientenfragebogens sind folgende Parameter erhoben worden:

- Personendaten: u. a. zur Feststellung von Geburtsdatum, Geschlecht und Body-Mass-Index (BMI)
- Pigmentierungsmerkmale und Sonnenreaktion: u. a. zur Feststellung des Hauttyps nach Fitzpatrick

- Angaben zum Sonnenverhalten: Solarium-Besuche, Häufigkeit der Verwendung von Sonnenschutzmittel
- Angaben zur Ernährung: Verzehr von Vitaminpräparaten sowie Verzehr von Fisch
- Krankheitsanamnese: zur Feststellung der Prävalenz von Erkrankungen, die laut aktueller Studienlage mit einem Vitamin D-Mangel in Relation stehen (Diabetes mellitus, Hypertonus, verschiedene Herzerkrankungen, Frakturen und maligne Erkrankungen)

2.2.2 Klinische Scores

Der Schweregrad der Hautbefunde wurde in einer kurzen klinischen Untersuchung, anhand von klinischen Scores beurteilt. Dabei diente der PASI-Score zur Dokumentation des Psoriasis-Stadiums. Die Abkürzung PASI steht für „Psoriasis Area and Severity Index“. Er beschreibt die Ausdehnung der Erkrankung, sowie den Schweregrad anhand von Rötung, Dicke der Plaques und Schuppung der Hautoberfläche. Die maximale erreichbare Punktzahl beträgt 72 Punkte und definiert sehr schwere Erkrankungen. Für die Patienten mit atopischer Dermatitis wurde der „Erlanger Atopie Score“ verwendet. Dieser gibt Auskunft über die Wahrscheinlichkeit, dass der Patient an einer atopischen Erkrankung (Neurodermitis, Asthma oder Heuschnupfen) leidet. Des Weiteren erfolgte, soweit möglich jeweils zu Beginn und Ende des Klinikaufenthaltes, eine Fotodokumentation zur Beurteilung des Therapieerfolges.

2.2.3 Blutdruck- und Gewichtsmessung

Die Blutdruckmessung und Gewichtsanalyse erfolgten standardisiert in der Lichttherapie. Die Messungen wurden vor Beginn der UV-Therapie durchgeführt, danach wöchentlich, jeweils fünf Minuten nach der Bestrahlung. Um Messfehler zu vermeiden, wurden die Messungen in der Mehrzahl der Fälle von der gleichen Person durchgeführt. Der Blutdruck wurde im Liegen gemessen. Anschließend erfolgte die Gewichtsanalyse mit der Personenwaage von der Firma SANITAS. Der BMI (1), die Körperoberfläche nach Mosteller (2) sowie die Körperoberfläche nach der 9-er Regel aus der Verbrennungslehre wurden anschließend errechnet.

(1) BMI = Körpergewicht : (Körpergröße in m)²

(2) Körperoberfläche nach Mosteller (m²) = $\sqrt{((\text{Körpergröße (cm)} * \text{Körpergewicht (kg)}) / 3600)}$

2.2.4 UV-Therapie

Die Ganzkörper UV-Therapie wurde in der Abteilung für Balneo- und Phototherapie der Universitätshautklinik durchgeführt. Die UV-Behandlungen erfolgten in der Bestrahlungskabine der Firma Waldmann Medizintechnik UV 7001 K. Diese UV-Kabine besitzt insgesamt 40 UV-Strahler. Davon 27 UVA-Röhren (Waldmann F85/100W-PUVA) sowie 13 nUVB-Röhren (Waldmann F85/100W-01_UV7001 [PUVA/TL01]). Durch gezielte Steuerung, ist der getrennte oder gleichzeitige

Betrieb beider Therapie-Bereiche (UVA und UVB) möglich. Die Behandlungen erfolgten nach den jeweiligen Behandlungsschemata für nUVB und PUVA-Therapie.

Die nUVB-Therapie wurde entweder als alleinige nUVB-Phototherapie oder als Photosole-Therapie verabreicht. Bei der nUVB-Therapie erfolgten die Behandlungen in steigenden Dosen, angepasst an den jeweiligen Hauttyp des Patienten (Anfangsdosis $0,1 \text{ J/cm}^2$, bei guter Verträglichkeit Steigerung der Dosis bei jeder 3. Behandlung um $0,1 \text{ J/cm}^2$ bis maximal $0,9 \text{ J/cm}^2$). Die Photosole-nUVB Therapie ist der Psoriasis-Therapie am Toten Meer nachempfunden. Dazu nehmen die Patienten vor der nUVB-Therapie ein 20 minütiges Meersalzbad (1 - 3 % bei offenen Hautstellen, 3 - 5 % bei unempfindlicher Haut).

Die UVA-Therapie wurde kombiniert mit Psoralen (Wirkstoff: Methoxsalen oder 8-Methoxypsoralen, Meladinine®-) als sogenannten PUVA-Therapie appliziert. Psoralen wirkt photosensibilisierend. Durch die Kombination mit UVA-Bestrahlung kommt es zu einer leichten Reizung der Haut, in deren Folge die unkontrollierte Vermehrung der Hautzellen nachlässt und die Hautveränderungen abheilen. Je nach Diagnose gibt es unterschiedliche Arten der Behandlung: Meladinine® kann oral eingenommen werden ($0,6 \text{ mg pro kg Körpergewicht}$), oder der Patient badet (20 min) bzw. duscht (12 min) die betroffenen Hautstellen in Methoxsalen-Lösung ($0,5 \text{ mg Methoxsalen/ 1 Liter Badewasser}$). Beschränkt sich der Hautbefund auf einen kleinen Bereich, kann dieser mit PUVA-Creme behandelt werden. Im Anschluss an die Photosensibilisierung erfolgt die UVA-Therapie in ansteigenden Dosierungen (Beginn mit $0,5 \text{ J/cm}^2$, Steigerung bei jeder 4. Behandlung um $0,5 \text{ J/cm}^2$ bis maximal $4,5 \text{ J/cm}^2$). Die Patienten der Studie wurden mit PUVA-Dusche, PUVA-Creme oder einer Bade PUVA-Therapie behandelt. Davon erhielten 11 Patienten eine Ganzkörper PUVA-Therapie, bei 10 Patienten wurden lediglich Füße und / oder Hände behandelt.

2.3 Genotypisierung der Polymorphismen

Für die Bestimmung der Polymorphismen wurde jedem Patienten ein EDTA-Röhrchen Vollblut entnommen. Die Isolation der genomischen DNA erfolgte meist direkt nach Blutentnahme. Falls dies nicht möglich war, wurde das EDTA-Blut zu längerer Haltbarkeit, bei -20°C gelagert. Die DNA wurde anschließend mithilfe des Taq Man Genotypisierungssystems auf Polymorphismen im VDBP-, VDR- und CYP2R1-Gen untersucht.

2.3.1 DNA-Isolation

Die DNA-Isolation erfolgte mit dem High-Pure-PCR-Template-Preparation Kit von Roche. Zur Lysierung der Zellen, wurde in einem Eppendorf Reagenzgefäß $200 \mu\text{l}$ vom EDTA Blut mit $200 \mu\text{l}$ Binding Puffer und $40 \mu\text{l}$ Proteinase K vermischt. Durch sofortige Inkubation im Heizblock bei 70°C für 10 min wurden alle Nukleasen inhibiert. Nach der Inkubation wurde der Lösung $100 \mu\text{l}$

Isopropanol zugegeben, resuspendiert und der gesamte Inhalt auf die DNA-bindende-Säule (High Pure Purification Filter Tube) geladen. Diese wurde bei 8.000 g für 1 Minute zentrifugiert. Dabei haben zelluläre Nukleinsäuren (DNA) spezifisch an das vorbeschichtete Glasfasermaterial der Säule gebunden. In einem Waschschriff mit 1 x 500 µl Inhibitor-Removal-Puffer wurden Rückstände, die eine PCR behindern können (z.B. Heparin, aus Blutentnahmeröhrchen), aus der DNA heraus gewaschen. In zwei weiteren Waschschriffen mit jeweils 500 µl Waschpuffer sind Salze, Proteine und weitere Verunreinigungen aus der Säule entfernt, und die DNA aufgereinigt worden. Die Säule wurde 1 Minute bei 13.000 g kurz getrocknet und anschließend die DNA mit 100 µl Elution Buffer (auf 70 °C erhitzt) aus der Säule eluiert (1 Minute bei 8.000 g zentrifugieren). Um die DNA- Konzentration zu erhöhen, wurde das Eluat erneut auf die Säule geladen und zentrifugiert. Nach der Isolation wurde die DNA bei -70 °C gelagert.

2.3.2 DNA-Konzentrationsmessung und Verdünnung

Im Anschluss der DNA-Isolation erfolgte die Konzentrationsbestimmung mittels Messung der optischen Dichte (OD) bei 260 nm. Die Absorptionsmessung der Nukleinsäuren im Eluat ist mittels NanoVue Spektro-/Photometer durchgeführt worden. Dazu wurde 1 µl Eluat auf die Mess-Sonde pipettiert und analysiert. Für die Kalibrierung des Spektrometers wurde Elutions-Puffer aus dem High Pure-PCR-Template-Preparation-Kit von Roche verwendet. Die Berechnung der DNA-Konzentrationen in µg / µl erfolgte im Spektrometer mit Formel (3). Die Patientenproben wiesen DNA-Konzentrationen von 36 – 238 ng/µl auf. In der Kontrollgruppe wurden DNA-Konzentrationen von 38 – 755 ng/µl gemessen. Laut Protokoll (des TaqMan® GTXpress™ Master Mix) ist für die Genotypisierung eine DNA-Konzentrationen von 1 bis 10 ng/µl empfohlen. Folglich wurde die DNA mit sterilem Wasser auf 10 ng/µl verdünnt. Das Gesamtvolumen der Verdünnung betrug 100 µl, womit der Verdünnungsfaktors errechnet werden konntet (4). Im Anschluss daran wurde mithilfe des Verdünnungsfaktors (VF) die einzusetzende DNA-Menge errechnet (5). Das Volumen des sterilen Wassers ergab sich aus der Subtraktion der DNA-Menge vom Gesamtvolumen (100 µl) der anzusetzenden Verdünnung. Die verdünnten DNA-Proben (a 10 ng/µl) wurden zu je 30 µl in eine 96-Well-MicroAmp-Platte pipettiert und mit Folie (Optical Adhesive Film) verschlossen. Die verschlossenen MicroAmp-Platten wurden bis zur Genotypisierung im StepOnePlus™ Real-Time PCR Cycler bei -70 °C gelagert.

(3) $[\mu\text{g} / \mu\text{l}] = (50 \times 260) / 1000.$

(4) Verdünnungsfaktor (VF) = $[10 \mu\text{g (Endkonzentration)} \times 1\mu\text{l (Endvolumen)}] / \text{Gemessene DNA Konzentration (in } \mu\text{g}/\mu\text{l)}$

(5) Volumen an unverdünnter DNA (in µl) = $100\mu\text{l} / \text{VF}.$

2.3.3 Genotypisierung mit TaqMan-SNP-Assays

Grundsätzlich basiert die Genotypisierung mithilfe der TaqMan-SNP-Assays auf einer Polymerasekettenreaktion (PCR). Mit der Entwicklung des TaqMan-SNP-Assay-Systems ist es gelungen, sowohl die Amplifikation als auch die Analyse der PCR-Produkte simultan, in einem einzigen Reaktionsgefäß zu ermöglichen. Das Prinzip der Genotypisierung von Single Nukleotide Polymorphismen mit dem TaqMan-PCR-Assay beruht auf fluorogenen Gensonden und wurde 1993 von Applied Biosystems entwickelt. Identisch zur konventionellen PCR wird in jedem Zyklus die DNA-Matrize innerhalb der Primersequenzen amplifiziert. Die Besonderheit der AmpliTaq-DNA-Polymerase beruht auf der 5'-3'-Exonuklease-Aktivität. Dadurch ist die Polymerase in der Lage, zeitgleich zur Elongation des Tochterstranges, die hybridisierten Gensonden zu hydrolysieren.

Jeder TaqMan®-SNP-Genotyping-Assay enthält zwei unterschiedlich fluorogene Oligonukleotidsonden. Diese Sonden binden an die polymorphe DNA-Sequenz des SNP, wobei jede Sonde sequenzspezifisch nur an eines der beiden möglichen Allele bindet. Zur Differenzierung beider Sonden sind die 5'-Ende mit einem fluoreszenten Reporter-Farbstoff (Allel 1 = VIC; Allel 2 = FAM (6-Carboxy-Fluorescein)) gelabelt. Das 3'-Ende trägt einen Quencher-Farbstoff (6-Carboxytetramethylrhodamin). Zusätzlich hat das 3'-Ende der Sonde eine MGB (Major groove Binding). Diese stabilisiert den nicht-fluorogenen Quencher und verlängert die Haltbarkeit der Sonde (Afonina et. al 1997, Kutyavin et. al 2000). Regt man die intakte Sonde mit einer spezifischen Wellenlänge von 488 nm zur Fluoreszenz an, wird diese aufgrund der räumlichen Nähe des Reporters zum Quencher durch einen Fluoreszenz-Energietransfer (FET) unterdrückt. In der Annealing-Phase der PCR binden die Sonden und Primer sequenzspezifisch an den Matrizen-DNA Strang. Während der Elongation trifft die Polymerase auf die hybridisierte Sonde und beginnt diese durch die 5'-3'-Exonuklease Aktivität zu hydrolysieren. Dadurch wird die räumliche Nähe von Reporter und Quencher aufgehoben, wodurch es zur Aussendung des Fluoreszenz-Signales kommt (Abb. 24). Diese steigt entsprechend der Menge an PCR-Produkt in jedem Zyklus an. Da ungebundene Sonden verdrängt und nicht hydrolysiert werden, ist das Signal 100 % sequenzspezifisch. Die Menge der Fluoreszenz-Farbstoffe wird im StepOnePlus™ Cycler nach jedem Zyklus gemessen. Am Ende der PCR erfolgt die Bestimmung des Genotyps anhand der Allel-spezifischen Fluoreszenz-Signale.

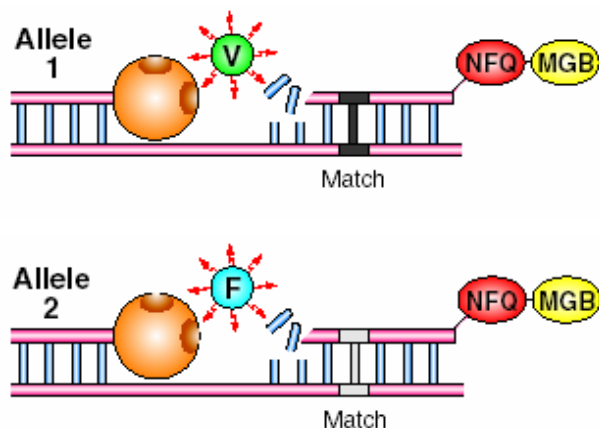


Abbildung 24:

Prinzip des TaqMan®-Verfahrens. Aufgrund der 3'→5'-Aktivität der DNA-Polymerase werden die angelagerten DNA-Sonden abgespalten. Damit kommt es zum Anstieg der allel-spezifischen Fluoreszenz. V = Fluoreszenzfarbstoff VIC; F = Fluoreszenzfarbstoff FAM; MGB = Stabilisator (Minor Groove Binder); NFQ = Quencher (nicht fluoreszierend); Orange Kugel = AmpliTaQ Gold DNS Polymerase

(Applied Biosystems „Allelic Discrimination Getting Started Guide“)

2.3.4 Durchführung

Die Genotypisierungs-Reaktion wurde mit einem 5 µl Ansatz in 96-Well-Platten (Fast Optical 96-Well Reaction Plate) durchgeführt. Hierfür ist der unten aufgeführte Master Mix (Tab. 7) für die Anzahl der zu analysierenden Proben + 10 vol % angesetzt und davon mit der Multipipette in je 4µl pro Well vorgelegt worden.

<u>Produkt</u>	<u>Menge in µl</u>
TaqMan GTXpress™ Master Mix (2 x)	2,5
TaqMan Genotyping Assay Mix (20 x)	0,25
DNase-freies Wasser	1,25
Gesamtvolumen	4

Tabelle 7:

Bestandteile des Reaktions-Master-Mix für den TaqMan®-Assay:

Im Anschluss daran wurde jedem Well 1µl Proben-DNA (10 ng/µl) zugegeben, sodass ein Gesamtvolumen von 5 µl erreicht wurde. Zwei Wells bestückt mit sterilem Wasser, anstatt DNA dienen als negativ Kontrolle. Die Amplifikation der beladenen MicroAmp™ Fast Platte erfolgte im StepOnePlus™ Real-Time PCR Cycler laut folgendem fast PCR Protokoll (Tab. 8)

<u>Stage</u>	<u>Temperatur</u>	<u>Dauer</u>
Pre-PCR read	25 °C	30 sec
Holding	95 °C	20 sec
Denaturierung	95 °C	3 sec
Annealing	60 °C	20sec
Post PCR read	25 °C	30sec

Tabelle 8:

Zeigt das Protokoll der Polymerasekettenreaktion mit 5 µl Reaktionsvolumen und 40 Zyklen

Am Ende der PCR-Amplifikation führt der StepOnePlus™-Real-Time-PCR-Cycler eine End-Point-Messung (post-PCR-Read) durch. Dabei erfolgt in jedem Well eine Fluoreszenz-Messung, welche

analysiert und aufgezeichnet wird. Für die Auswertung der Messung wurde die TaqMan[®]-Genotyper-Software (erhältlich auf der Homepage von Applied Biosystems) verwendet. Diese ordnet den Proben anhand der Fluoreszenz Intensität (VIC oder FAM) den jeweiligen Genotyp zu.

stark positives VIC-Fluoreszenz Signal =>	Homozygot für Allel 1
stark positives FAM-Fluoreszenz Signal=>	Homozygot für Allel 2
VIC und FAM-Signal positiv =>	Heterozygot für Allel 1 und 2

Das Resultat der allelischen Diskrimination wird in einer Blot-Grafik (Abb. 25) dargestellt. Falls die automatische Zuordnung durch die Software erfolglos blieb, wurde der Genotyp manuell, anhand der Fluoreszenz-Intensität und Schmelzkurvenverlauf bestimmt. Im Zweifelsfall wurde die Probe wiederholt. Die Ausgabe der analysierten Genotypen erfolgte in einer Excel-Tabelle und ist für die statistische Auswertung in SPSS 18 übertragen.

Die Context-Sequenz der SNP-Sonden von Applied Biosystems sind je nach Produktionsart z. T. gegenläufig zur DNA. In der Auswertung der SNP-Assays mittels Software, wird der SNP-Genotyp angegeben, dieser kann folglich entgegengesetzt zur DNA-Sequenz sein. Die Genotypen in Publikationen sind entweder als Assay- oder DNA-Sequenz angegeben. Da dies leicht zu Verwirrungen führt, sind zur besseren Übersicht in den folgenden Kapiteln sowohl die Assay-Genotypen als auch die Haplotypen auf DNA-Ebene (NCBI) aufgeführt.

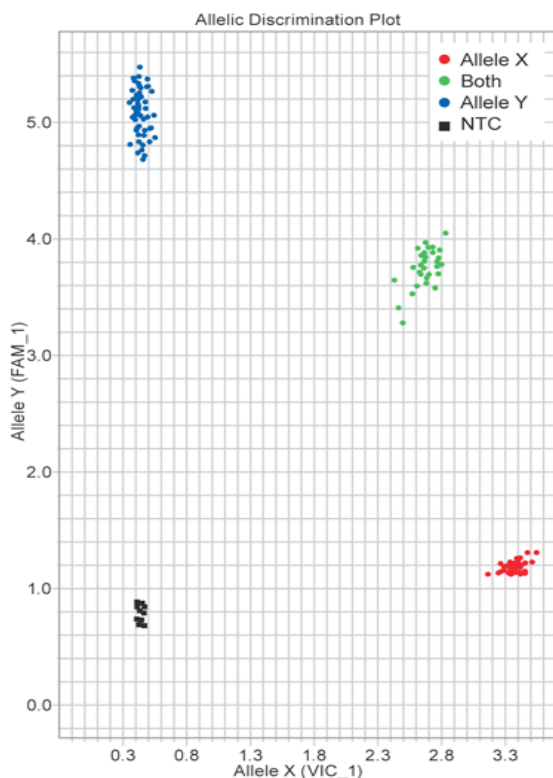


Abbildung 25:

links: Auswertung der Fluoreszenzmessung als Blot-Grafik. Auf der Abszisse sind homozygote Genotypen für den Fluoreszenzfarbstoff VIC aufgetragen, auf der Ordinate homozygote Genotypen für FAM. Die heterozygoten Genotypen sind grün dargestellt, (Quelle: Applied Biosystems).

unten: SNP-Genotyping-Assay sowie die mitgelieferte Daten-CD, (Quelle: Applied Biosystems).



2.3.5 Untersuchte Polymorphismen im VDR, VDBP und CYP2R1

Untersucht wurden vier Polymorphismen im Vitamin D-bindenden Protein (VDBP), fünf Polymorphismen des Vitamin D-Rezeptors (VDR) sowie ein weiterer Polymorphismus in der Sequenz des 25-Hydroxylase-Gens (Tab. 9). Bis auf eine Ausnahme (rs1155563) waren die verwendeten Sonden als pre-designed SNP-Assays erhältlich. Für den SNP rs1155563 ist ein Customer-designed-Assay von Applied Biosystems synthetisiert worden.

Tabelle 9: Die untersuchten Polymorphismen, mit Gen-Lokus, Genotyp auf DNA-Ebene und Assay Genotyp (Context Sequenz) sowie die Art des Polymorphismus (laut SNP Sonden-Beipackzettel von Applied Biosystems).

Name des SNP	Lokus	DNA-Sequenz NCBI	Context Sequenz SNP Assay	SNP-Typ
rs7041	VDBP	G / T	A / C	Mis-sense Mutation
rs4588	VDBP	A / C	G / T	Mis-sense Mutation
rs2282679	VDBP	A / C	G / A	Intron
rs1155563	VDBP	C / T	G / A	Mis-sense Mutation
rs7975232	VDR	A / C	A / C	Intron
rs731236	VDR	C / T	A / G	Intergenic/ unbekannt
rs757343	VDR	A / G	C / T	Intron
rs2107301	VDR	C / T	A / G	Intron
rs11574143	VDR	A / G	C / T	Intergenic/unbekannt
rs2060793	CYP2R1	A / G	A / G	Intergenic/ unbekannt

rs7041

Gene Symbole: VDBP/ GC

Gene Name: group-specific component (Vitamin D-bindendes Protein)

Lokalisation: Chromosom 4, 4p16.3d

SNP-Typ: Mis-sense Mutation

NCBI Gene Reference: NM_000583.2

Assay ID: C__3133594_30

Reporter 1 (A) Dye: VIC

Reporter 2 (C) Dye: FAM

Context Sequence: Forward

GCTTTGCCAGTTCCGTGGGTGTGGC[A/C]TCAGGCAATTTTGCTTTTAGTCGCT

SNP-Sequenz laut NCBI:

GAGCGACTAAAAGCAAAATTGCCTGA[G/T]GCCACACCCACGGAAGTGGCAAAGC

rs4588

Gene Symbole: VDBP/ GC

Gene Name: group-specific component (Vitamin D-bindendes Protein)

Lokalisation: Chromosom 4, 4q13.3b

SNP-Typ: Mis-sense Mutation

NCBI Gene Reference: NM_000583.2

Assay ID: C__8278879_10

Reporter 1 (G) Dye: VIC

Reporter 2 (T) Dye: FAM

Context-Sequence: Reverse

CTTGTTAACCAGCTTTGCCAGTTCC[G/T]TGGGTGTGGCATCAGGCAATTTTGC

SNP-Sequenz laut NCBI:

AGCAAAATTGCCTGATGCCACACCCA[A/C]GGAAGTGGCAAAGCTGGTTAACAAG

rs2282679

Gene Symbole: VDBP/ GC

Gene Name: group-specific component (Vitamin D-bindendes Protein)

Lokalisation: Chromosom 4, 4q13.3b

SNP-Typ: Intron

NCBI Gene Reference: NM_000583.2

Assay ID: C__26407519_10

Reporter 1 (G) Dye: VIC

Reporter 2 (T) Dye: FAM

Context-Sequence: Forward

AGCTAACAATAAAAAATACCTGGCT[G/T]TGTGAGATAATTAAGAGACAGAGAT

SNP-Sequenz laut NCBI:

AATCTCTGTCTCTTAATTATCTCACA[A/C]AGCCAGGTATTTTTTATTGTTAGCT

rs1155563 customer designed assay

Gene Symbole: GC /VDBP

Gene Name: group-specific component (Vitamin D-bindendes Protein)

Assay ID: customer designed (AHWRLWR)

Reporter 1 (G) Dye: VIC

Reporter 2 (T) Dye: FAM

Reporter 1-Sequence: ACTGTGATTTTTTTATCT(G)TTAAA

Reporter 2-Sequence: CTGTGATTTTTTTATCT(A)TTAAA

SNP-Sequenz laut NCBI:

TGTGCTCTTGCTATTGTATTTTTTAA[C/T]AGATAAAAAAATCACAGTTATTTC

rs7975232

Gene Symbole: VDR

Gene Name: Vitamin D (1,25- dihydroxyvitamin D₃) Receptor

Lokalisation: Chromosom 12, 12p13.33d

SNP-Typ: Intron

NCBI Gene Reference: NM_000376.2,NM_001017535.1

Assay ID: C__28977635_10

Reporter 1 (A) Dye: VIC

Reporter 2 (C) Dye: FAM

Context-Sequence: Forward

AAGGCACAGGAGCTCTCAGCTGGGC[A/C]CCTCACTGCTCAATCCCACCACCCC

SNP-Sequenz laut NCBI:

GAAGGCACAGGAGCTCTCAGCTGGGC[A/C]CCTCACTGCTCAATCCCACCACCCC

rs731236

Gene Symbole: VDR

Gene Name: Vitamin D (1,25- dihydroxyvitamin D₃) Receptor

Lokalisation: Chromosome 12, 12p13.33d

SNP-Typ: Intergenic/Unknown

NCBI Gene Reference: keine

Assay ID: C__2404008_10

Reporter 1 (A) Dye: VIC

Reporter 2 (G) Dye: FAM

Context-Sequence: Forward

TGGACAGGCGGTCCTGGATGGCCTC[A/G]ATCAGCGCGGCGTCCTGCACCCCAG

SNP-Sequenz laut NCBI:

CCTGGGGTGCAGGACGCCGCGCTGAT[C/T]GAGGCCATCCAGGACCGCCTGTCCA

rs757343

Gene Symbole: VDR

Gene Name: Vitamin D (1,25- Dihydroxyvitamin D₃) Receptor

Lokalisation: Chromosome 12, 12p13.33d

SNP-Typ: Intron

NCBI Gene Reference: NM_000376.2,NM_001017535.1

Assay ID: C__2404009_20

Reporter 1 (C) Dye: VIC

Reporter 2 (T) Dye: FAM

Context-Sequence: Reverse

CTCACCTCTAACCAGCGGAAGAGGT[C/T]AAGGGTCACTGCACATTGCCTCCAA

SNP-Sequenz laut NCBI:

TTTGGAGGCAATGTGCAGTGACCCTT[A/G]ACCTCTTCCGCTGGTTAGAGGTGAG

rs2107301

Gene Symbole: VDR

Gene Name: Vitamin D (1,25- Dihydroxyvitamin D₃) Rezeptor

Lokalisation: Chromosome 12, 12p13.33d

SNP-Typ: Intron

NCBI Gene Reference: NM_000376.2,NM_001017535.1

Assay ID: C__16174096_10

Reporter 1 (A) Dye: VIC

Reporter 2 (G) Dye: FAM

Context-Sequence: Forward

CTTGCTGAGTGTGAAATAATTTTGC[A/G]CAAGTTATTCCCATGCAAGACATGT

SNP-Sequenz laut NCBI:

AACATGTCTTGCATGGGAATAACTTG[C/T]GCAAAATTATTCACACTCAGCAAG

rs11574143

Gene Symbole: VDR

Gene Name: Vitamin D (1,25- Dihydroxyvitamin D₃) Rezeptor

Lokalisation: Chromosome 12, 12q13.11c

SNP-Typ: Intergenic/Unknown

NCBI Gene Reference: keine

Assay ID: C__30742412_10

Reporter 1 (C) Dye: VIC

Reporter 2 (T) Dye: FAM

Context-Sequence: Reverse

TTTGTAACTCCTCCAGGTCCTGGCA[C/T]AGCCGCCATCTCTAATGGCAGACAC

SNP-Sequenz laut NCBI:

TGTGTCTGCCATTAGAGATGGCGGCT[A/G]TGCCAGTGACCTGGAGGATTACAAA

rs2060793

Gene Symbole: CYP2R1

Gene Name: Cytochrome P450, (Familie 2, Unterfamilie R, Polypeptid 1)

Lokalisation: Chromosom 11, 11p15.2b

SNP-Typ: Intergenic/Unknown

NCBI Gene Reference: keine

Assay ID: C___2958431_10

Reporter 1 (A) Dye: VIC

Reporter 2 (G) Dye: FAM

Context-Sequenz: Forward

ATATTGGGCCCACCTGGATAATCCC[A/G]ACTCAAAGATCAGCTGATTAGCCCT

SNP-Sequenz laut NCBI:

GGGCCCACCTGGATAATCCC[A/G]ACTCAAAGATCAGCTGATTAGCCCT

2.4 Analyse der Laborparameter

Die Bestimmung der Serumwerte von 25-Hydroxyvitamin D, HbA_{1c}, CRP, Gesamtcholesterin, HDL und LDL erfolgte im Rahmen des Klinikaufenthaltes der Patienten durch das Institut für klinische Medizin und Laboratoriumsmedizin, am Uniklinikum des Saarlandes. Um die Risiken einer zusätzlicher Venenpunktion für die Patienten zu minimieren, erfolgten die dazu erforderlichen Blutentnahmen möglichst im Rahmen der stationären Routineblutentnahmen.

2.4.1 Serumspiegel von 25(OH)D₃

Für die Bestimmung des 25(OH)D₃-Serumspiegels wurden den Patienten eine 4,7 ml Serum-Monovette Blut abgenommen. Die Bestimmung erfolgte mit dem Liaison 25OH Vitamin D TOTAL Assay. Das Verfahren zur quantitativen Bestimmung von 25(OH)D₃ in Serum und Plasma, besteht aus einem direkten, kompetitiven Chemi-Lumineszenz-Immuno-Assay (CLIA). Spezifische Antikörper gegen 25(OH)D₃ werden zur Beschichtung von Magnetpartikeln (Festphase) eingesetzt. Ein Isoluminolderivat detektiert gebundenes 25(OH)D₃. Während der ersten Inkubation wird 25(OH)D₃ von seinem Bindungsprotein gelöst und an den Antikörper gebunden. Im Anschluss daran gibt man einen Indikator zu, welcher an 25(OH)D₃ bindet. Nach weiteren 10 min Inkubation wird das ungebundene Material in einem Waschzyklus entfernt. Anschließend werden Starterreagenzien hinzu

gegeben womit die Chemilumineszenz-Reaktion initiiert wird. Das Lichtsignal wird von einem Photomultiplier in relativen Lichteinheiten gemessen und ist zur 25(OH)D₃-Konzentration, der Kalibratoren, Proben und Kontrollseren umgekehrt proportional.

2.4.2 HbA_{1c}

Eine einzelne Blutglukose-Messung spiegelt den Zustand eines Patienten in den vergangenen Stunden wieder, gibt aber keine Aussage über den längerfristigen Status der Blutglukoseregulierung. Die Bestimmung des HbA_{1c} hingegen ermöglicht eine Abschätzung der mittleren Blutglukosekonzentration rückblickend auf zwei bis drei Monate. Das Glykohämoglobin HbA_{1c} entsteht im Blut durch Glykierung aus HbA₀ in zwei nicht-enzymatischen Schritten. Im ersten Schritt reagiert die Glukose-Carbonylgruppe mit der Aminogruppe des N-terminalen Valins der Hämoglobin-β-Kette zu einem labilen Aldimin (Schiff'sche Base). Die Konzentration des Aldimins ist direkt proportional zur Blutglukosekonzentration. In der folgenden Amadori-Umlagerung wird ein Teil der Schiff'schen-Base irreversibel zum stabilen Ketoamin HbA_{1c} umgewandelt.

Die Bestimmung der HbA_{1c}-Serumspiegel aus EDTA-Vollblut erfolgte via Ionen-Austausch-HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Die Auftrennung der glykierten Hämoglobinfraktion gelingt in einer Kationenaustauscherkartusche. Diese ist durch einen Gradienten zunehmender Ionenstärke gekennzeichnet, wodurch sich unterschiedliche Retentionszeiten der Fraktionen ergeben. Die aufgetrennten und eluierten Hämoglobinfraktionen werden im Filterphotometer anhand der Absorptionsänderung bei 415 nm gemessen und detektiert. Die Absorptionen der verschiedenen Fraktionen werden im Chromatogramm gegen die Retentionszeiten aufgetragen. Die Software errechnet daraus den HbA_{1c}-Gehalt des Blutes in Prozent. Die Referenzbereich liegt bei < 6 %.

2.4.3 C-reaktiven Protein (CRP)

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein klassisches Akute-Phase-Protein, dessen Konzentration im Laufe inflammatorischer Prozesse bis auf das 1.000-fache des basalen Wertes ansteigen kann. Die Bestimmung der CRP-Konzentration im Blut ist bei vielen entzündlichen Erkrankungen zu einer Standardmethode geworden. Außerdem kann ein geringer Anstieg der CRP-Konzentration ein Marker für das Risiko zukünftiger kardiovaskulärer Erkrankungen sein.

Die Bestimmung des CRP erfolgte über immunologische Turbidimetrie. Dabei wird zu der Probe ein an Latex gebundener Anti-CRP-Antikörper gegeben. Dieser bindet an das CRP-Antigen, sodass es zu einem Antigen-Antikörper-Latex-Komplex kommt. Dieser Komplex fällt aus und bildet einen Niederschlag, welcher die Suspension eintrübt. Während einer Titration wird nun die Transmission des Lichtes durch die Suspension gemessen. Anhand der Kalibratoren wird die Menge an CRP bestimmt. Die Referenzbereich liegt bei < 5 mg/l.

2.4.4 Gesamt-Cholesterin

Cholesterin wird zu drei Viertel neusynthetisiert und zu einem Viertel mit der Nahrung aufgenommen. Die Cholesterinbestimmung im Plasma dient als Screening auf ein atherogenes Risiko und zur Diagnose und Behandlung von Krankheiten mit Cholesterin sowie Lipid- und Lipoproteinstoffwechselstörungen. Das Testprinzip erfolgt nach der 1974 beschriebenen Methode von Roeschlau und Allain. Die Methode beruht auf drei enzymatischen Reaktionen. In der ersten Reaktion werden die Cholesterinester durch Cholesterinesterase gespalten, dadurch entstehen freie Fettsäuren und Cholesterin. Die Folgereaktion besteht aus der Oxidation des Cholesterins. Bei diesem Reaktionsschritt wird Wasserstoffperoxid frei gesetzt, welches in einer letztlich unter katalytischer Wirkung von Peroxidase zu einem roten Farbstoff umgewandelt wird. Die Farbintensität ist direkt proportional zur Cholesterinkonzentration und wurde photometrisch gemessen. Der Referenzbereich beträgt < 200 mg/dl.

2.4.5 HDL-Cholesterin (High density Lipoprotein)

Die Bestimmung des HDL-Cholesterins im Plasma erfolgte ebenfalls nach der Methode von Roeschlau und Allain. Zur Selektion der HDL-Fraktion, wird vor dem ersten Reaktionsschritt Dextransulfat zugeben. Dieses bildet in Anwesenheit von Magnesiumsulfat wasserlösliche Komplexe mit LDL und Chylomikronen. Dadurch agiert allein das HDL-Cholesterin als Substrat in den Folgereaktionen. Der Referenzbereich liegt für Frauen bei 45 - 65 mg/dl und 35 -55 mg/dl bei Männern.

2.4.6 LDL-Cholesterin (Low density Lipoprotein)

Die Messung des LDL-Cholesterin erfolgte ähnlich der HDL-Cholesterinbestimmung nach Roeschlau und Allain. Hier wird jedoch ein Detergenz zur selektiven Mizellen-Solubilisation des LDL-Cholesterin genutzt. Weiterhin werden Wechselwirkungen zwischen einer Zuckerverbindung, Mg^{2+} und Lipoproteinen (VLDL und Chylomikronen) ausgenutzt, sodass diese an der Nachweisreaktion nicht teilnehmen. Folglich wird selektiv das LDL-Cholesterin im Serum bestimmt.

2.4.7 Triglyceride

Die Messung der Triglycerid-Konzentration im Plasma erfolgt ebenfalls mithilfe eines enzymatischen Farbtastes. Dabei werden die primär Triglyceride in Glycerin und Fettsäuren zerlegt. Im Anschluss daran wird Glycerin mit ATP zu Glycerin-3-Phosphat umgesetzt. Dieses wird durch die Glycerinphosphatoxidase enzymatisch zu Dihydroxyacetonphosphat und Wasserstoffperoxid umgewandelt. Dieses reagiert in einer letzten Reaktion gemeinsam mit einem Indikatorstoff durch das Enzym Peroxidase. Dadurch kommt es zu einem Farbumschlag welcher photometrisch bestimmt wird. Der Referenzbereich liegt bei < 200 mg/dl.

2.5 Geräte und Materialien

2.5.1 Geräte

Waldmann Medizintechnik UV 7001 K (UV-Kabine)

Nano Vue (Firma Healthcare Bio-Sciences AB; Serial Nr.: 108880)

StepOnePlus™ Real-Time PCR Cycler

Tischzentrifuge von Heraeus instruments (Fabrikat Nr. 224032, Best. Nr: 750055109)

Blutdruckmessgerät von VISOMAT Uebe medical GmbH Manschette/ CUFF Typ H4 Art. Nr. 21040

Personen-Waage SANITAS Typ SPS 06 max. 150kg

2.5.2 Materialien

Materialien für Bestimmung der Laborparameter mit dem Roche Hitachi 917

Liaison 25OH Vitamin D TOTAL Assay	Bestellnummer 310600, DiaSorin
VARIANT™ II HbA _{1c} T	REF. Nr.: 270-2400, Bio-Rad
Cholesterol	Bestellnummer 11 491 458 216, Roche Diagnostics
HDL-Cholesterol plus	Bestellnummer 04 713 257 190, Roche Diagnostics
LDL-Cholesterol plus	Bestellnummer 04 714 423 190, Roche Diagnostics
Triglyceride	Bestellnummer 11 730 711 216, Roche Diagnostics
CRP	Bestellnummer 04 956 885 190, Roche Diagnostics

Materialien für die Genotypisierung mit dem StepOnePlus™ Real-Time PCR Cycler

High Pure PCR Template Preparation Kit von Roche	Katalog. Nummer. 11 796 828 001
MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plate, 0.1 ml	Bestellnummer 4346907
MicroAmp™ Optical Adhesive Film	Bestellnummer 4311971
TaqMan® GTXpress™ Master Mix	Bestellnummer 4401892
Combitips® Plus 0,1ml von Eppendorf	Bestellnummer 0030 069.200
Steriles DNAase und RNAse freies Wasser	Lot.Nr: RNBB8007
Pipetten von Greiner, Gilson und Eppendorf	(2 µl, 5 µl, 10 µl, 20 µl, 100 µl, 500 µl, 1000 µl)
Eppendorf Multipette (10-er Kamm, 8-er Kamm)	

Chemikalien der Lichttherapie

Meersalz: Firma DermaSel®- Totes Meer Badesalz Pur, 5 kg

Psoralen: Firma Galderma - Meladinine ®- Methoxsalen 0,3 %, 500 ml,

Chemikalien

70 % Propanol

TE- Puffer (1x) 10 mM TRIS-HCL

1 mM EDTA

pH 8,0 mit sterilem H₂O

Aqua dest. Braun Spüllösung Ecotainer 1000ml

von Disposan Art. Nr.: 2502929

DNAse und RNAse freies Wasser

von Sigma Art. Nr.: W4502

Programme

Excel 2003,

Word 2010,

SPSS 19.0

Endnote 6.0

3 Ergebnisse

Die Auswertung der Daten erfolgte mit SPSS 19.0. Für die statistische Auswertung wurden 25(OH)D₃-Serumwerte unter 4 ng/ml, gleich 1 gesetzt.

3.1 Patientenkollektiv

In die Studie wurden 57 stationäre und ambulante Patienten (w = 30; m = 27) einbezogen, welche in der Zeit von Oktober 2010 bis Mai 2011 in der Universitätsklinik eine Phototherapie erhalten haben. Davon erhielten 21 Patienten eine PUVA- und 36 Patienten eine nUVB-Therapie (Tab. 10).

Die überwiegende Mehrheit (58 %) der nUVB-Gruppe bestand aus Psoriasis-Patienten (n = 21). In der PUVA-Gruppe waren Hauterkrankungen wie Ekzem, Lichen ruber oder -simplex, Prurigo nodularis, Morphea und Kollagenosen die weitaus häufigsten Diagnosen (n = 17; 81 %), welche in den folgenden Untersuchungen zur Gruppe „andere Diagnosen/Hauterkrankungen“ zusammengefasst wurden (Abb. 26).

Tabelle 10: Häufigkeiten der Diagnosen innerhalb der nUVB und PUVA-Behandlungsgruppen

Erkrankungen/Diagnose	PUVA-Therapie	nUVB-Therapie
	n =	n =
Neurodermitis	0	8
Psoriasis	4	21
andere Diagnosen	17	7
Anzahl Patienten insgesamt	21	36

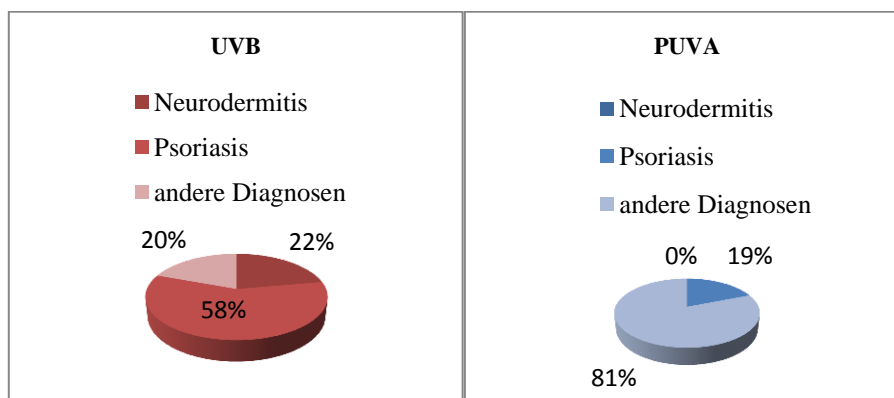


Abbildung 26: Prozentuale Verteilung der Grunderkrankungen in der PUVA und nUVB-Patientengruppe

3.2 Vitamin D-Mangel-Prävalenz innerhalb der untersuchten Population

Von 41 Patienten standen Vitamin D-Ausgangswerte (Baseline) zur Verfügung, anhand derer die Prävalenz des Vitamin D-Mangels innerhalb der untersuchten Population errechnet wurde. Von 41 Patienten zeigten 35 Patienten (85,4 %) eine 25(OH)D₃-Serumkonzentration von < 20 ng/ml und wiesen folglich einen manifesten Vitamin D-Mangel auf. Bei 6 Patienten (14,6 %) ergab sich eine 25(OH)D₃-Serumkonzentration von > 20 ng/ml (Abb. 27).

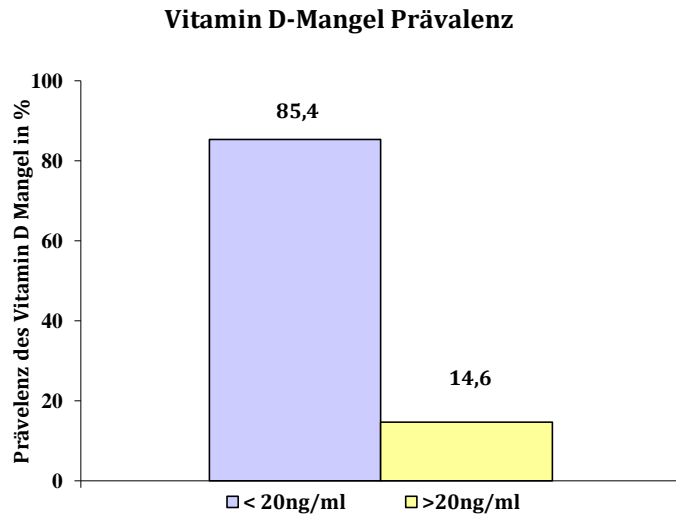


Abbildung 27:

Zeigt die Vitamin D-Mangel Prävalenz in der untersuchten Population. Insgesamt zeigten 85 % der untersuchten Patienten einen Vitamin D-Mangel von < 20 ng/ml

3.3 Einfluss individueller Faktoren und Verhaltensweisen auf den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel

3.3.1 Grunderkrankung

Der Zusammenhang zwischen 25(OH)D₃-Serumspiegel und den dermatologischen Grunderkrankungen ist in Tab. 11 und Abb. 28 aufgeführt.

Patienten mit Psoriasis zeigten mit 8,6 ng/ml geringfügig niedrigere Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel als Patienten mit Neurodermitis (13,3 ng/ml) oder anderen Hauterkrankungen (11,4 ng/ml). Die medianen 25(OH)D₃-Serumspiegel der jeweiligen Grunderkrankung wurden miteinander verglichen. Weder im ANOVA noch im Post Hoc Test (Bonferroni und Tamhane) zeigen die verschiedenen Grunderkrankungen einen signifikanten Unterschied der Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration ($p = 0,163$). Der Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel wird folglich nicht durch die dermatologische Grunderkrankung determiniert.

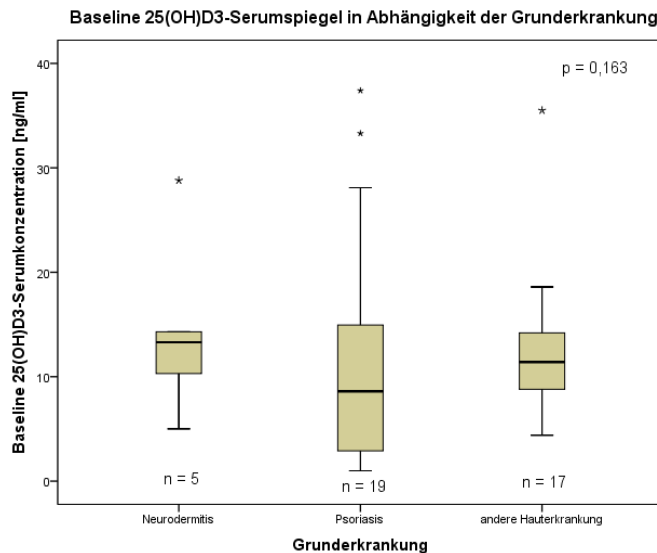


Abbildung 28:

Mediane Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration in Anhängigkeit der dermatologischen Grunderkrankung.

Zwischen den unterschiedlichen Erkrankungen zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel.

Dargestellt sind die Medianwerte sowie die 25. – 75. Perzentile. Als * sind die Extremwerte der jeweiligen Gruppe gekennzeichnet

3.3.2 Geschlecht

Für die geschlechtsabhängige Untersuchung wurden 25 weibliche und 16 männliche Patienten, unabhängig der dermatologische Grunderkrankung in den ANOVA-Test einbezogen. Es konnten keine geschlechtsspezifischen Unterschiede im Vitamin D-Baseline-Serumspiegel nachgewiesen werden. Männliche Patienten zeigten einen medianen Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel von 8,9 ng/ml, bei weiblichen Patienten lag dieser um den Wert 10,5 ng/ml. Der p-Wert der Gesamtsignifikanz betrug $p = 0,699$. Die Ergebnisse sind in Abb. 29 und Tab. 11 dargestellt.

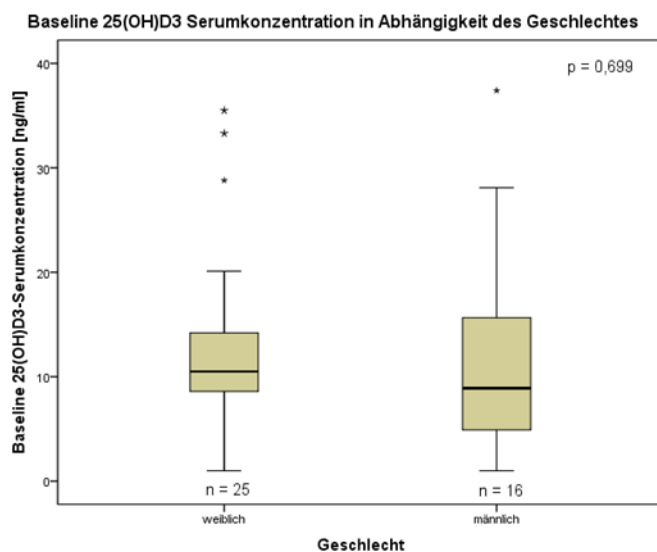


Abbildung 29:

Abhängigkeit der Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration vom Geschlecht der Patienten.

Es zeigten sich keine signifikanten, geschlechtsspezifischen Unterschiede im Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel.

Dargestellt sind die Medianwerte sowie die 25. – 75. Perzentile, die Extremwerte der jeweiligen Gruppe sind als * gekennzeichnet.

3.3.3 Alter

Um den Zusammenhang zwischen Patienten-Alter und dem Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel zu errechnen, wurde der Spearman-Rho Test verwendet. Hier zeigte sich bei 41 einbezogenen Patienten keine signifikante Korrelation zwischen dem Alter der Patienten und dem Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel (Korrelationskoeffizient -0,36). Es ergab sich jedoch ein geringer Trend, dass mit zunehmendem Alter die Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel leicht absinken (Abb. 30, Tab. 11). Der P-Wert lag bei $p = 0,823$.

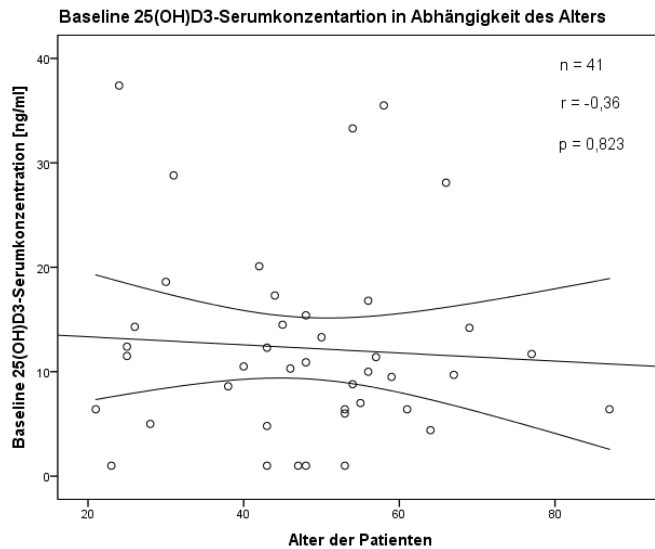


Abbildung 30:

Zeigt die Abhängigkeit der Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration vom Alter der Patienten.

Es zeigte sich der Trend, dass mit zunehmendem Alter die Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel absinken.

Dargestellt sind die Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen in Korrelation zu Alter der Patienten. Die gerade Linie zeigt die Korrelation. Die beiden Graphen ober- und unterhalb der Geraden stellen das 5 % und 95 % Konfidenzintervall dar.

3.3.4 Hauttyp

Die Korrelation zwischen dem Hauttyp und den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegeln wurde mit dem ANOVA- und Post-Hoc-Test untersucht. Hierfür wurden die Hauttypen der Patienten anhand des Patientenfragebogens in die Hauttypen nach Fitzpatrick eingeteilt. Für die statistische Auswertung wurden die Hauttypen zu 3 Gruppen zusammengefasst. Der keltische und nordische Hauttyp (Typ I und II nach Fitzpatrick) entsprachen der Gruppe „helle“ Hauttypen ($n = 7$). Der Mischtyp ($n = 12$) entsprach dem Typ III nach Fitzpatrick. Der mediterrane, dunkle und schwarze Hauttyp (Typ IV, V und VI nach Fitzpatrick) definierten die „dunklen“ Hauttypen ($n = 11$).

In den Ergebnissen der vorgelegten Studie zeigte sich erwartungsgemäß eine höhere Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration in hellen“ Hauttypen (Median 14,3 ng/ml), verglichen mit dem Misch-Typ (Median 11,15 ng/ml) oder den „dunklen“ Hauttypen (Median 10,3 ng/ml). Die Resultate bestätigten, dass Personen mit vermehrter Pigmentierung tendenziell niedrigere Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel aufweisen verglichen mit „hellen“ Hauttypen, innerhalb des gleichen Breitengrades (Abb. 31, Tab. 11). Bei einem p-Wert von 0,424 waren die Ergebnisse nicht signifikant. Abschließend wurden der Mischtyp und die dunklen Hauttypen zu einer Gruppe (III, IV, V und VI nach Fitzpatrick)

zusammengefasst und mit den Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen der „hellen“ Hauttypen (I und II nach Fitzpatrick) verglichen, hierbei ergab sich ein p-Wert von 0,432.

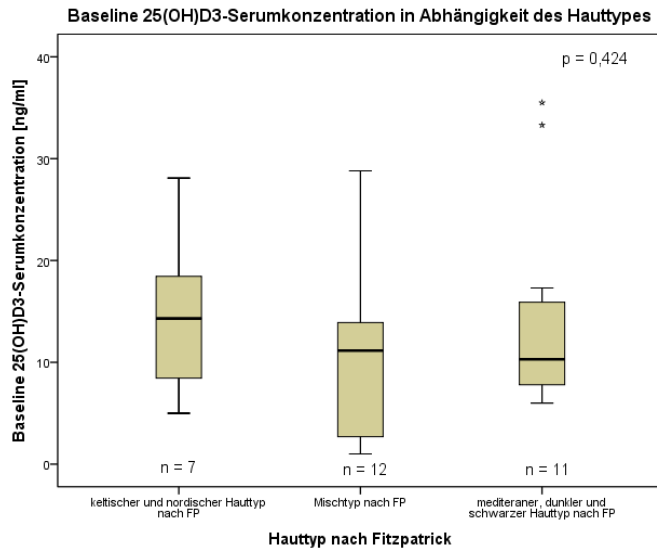


Abbildung 31:

Abhängigkeit der Baseline 25(OH)D₃-Serumkonzentration vom Hauttyp der Patienten.

Helle Hauttypen verzeichneten diskret höhere Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel als der Mischtyp oder dunkle Hauttypen, jedoch ohne Signifikanz.

Dargestellt sind die Medianwerte sowie die 25. – 75. Perzentile. Die Extremwerte der jeweiligen Gruppe sind als * gekennzeichnet.

3.3.5 BMI

Um den Zusammenhang zwischen den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel und BMI, Gewicht sowie der Körperoberfläche zu untersuchen wurde der Spearman Rho-Test angewendet. Hier zeigte sich keine Abhängigkeit zwischen dem BMI und den Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen (p-Wert = 0,109), (Abb. 32, Tab. 11). Zusätzlich ist geprüft worden, ob eine Korrelation mit dem Gewicht oder der Körperoberfläche nach Mos besteht. Auch hier konnte kein Zusammenhang mit den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel gefunden werden (p-Wert = 0,236 für das Gewicht, p-Wert = 0,144 für die Körperoberfläche nach Mos). Trotz mangelnder Signifikanz wiesen Patienten mit hohem BMI im Vergleich zu schlanken Patienten tendenziell leicht erhöhte Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel auf.

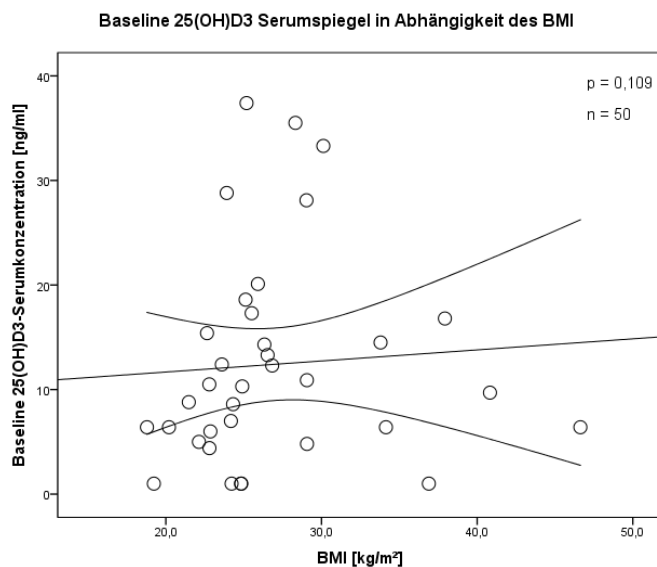


Abbildung 32:

Abhängigkeit der Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration vom BMI.

Mit steigendem BMI zeigten sich tendenziell leicht ansteigende Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen, ohne Signifikanz.

Die gerade Linie zeigt die Korrelation. Die beiden Graphen ober- und unterhalb der Geraden stellen das 5 % und 95 % Konfidenzintervall dar.

3.3.6 Fischverzehr

Fettiger Seefisch stellt bekanntlich eine gute Vitamin D-Quelle dar. Es wurde untersucht, ob der Genuss von Fisch den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel maßgeblich beeinflusst. Dazu sollten die Patienten auf dem Fragebogen angeben, wie häufig sie Fisch verzehren. Patienten, die seltener als 1 x pro Woche Fisch verzehrten, wurden für die statistische Auswertung der Gruppe „nie“ zugeordnet.

Es zeigte sich, dass von insgesamt 29 Patienten lediglich 2 Personen mindestens 1 x pro Woche Fisch aßen. Bei den verbliebenen 27 Patienten stand Fisch seltener als 1 x pro Woche bis nie auf dem Speiseplan. Hierbei wiesen Patienten, die regelmäßig bis zu 1 x pro Woche Fisch aßen, geringere Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen (6,2 ng/ml) auf, verglichen mit denen die selten bis nie Fisch zu sich nehmen (11,50 ng/ml). Der Unterschied war mit $p = 0,163$ nicht signifikant (Abb. 33, Tab. 11).

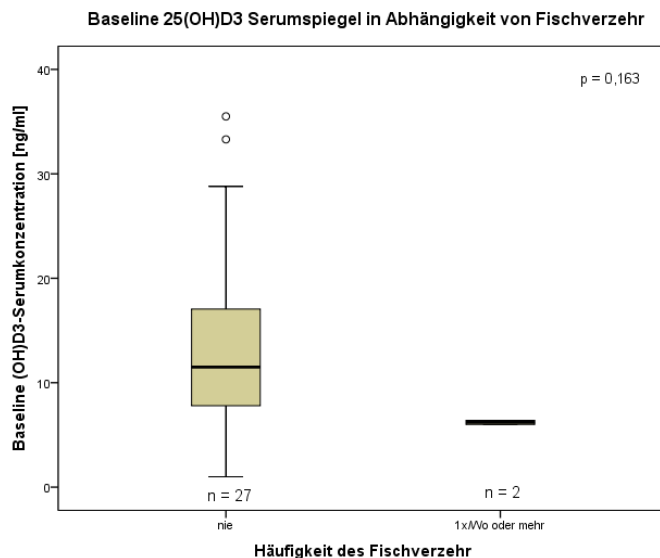


Abbildung 33:

Zeigt die Abhängigkeit der 25(OH)D₃ Serumkonzentration vom Fisch-Verzehr.

Es konnte kein Zusammenhang zwischen Fischverzehr und 25(OH)D₃-Baselinewert verzeichnet werden.

Dargestellt sind die Medianwerte sowie die 25. – 75. Perzentile. Die Extremwerte der jeweiligen Gruppe sind mit ° gekennzeichnet.

3.3.7 Solarium / Sonnenstudio

Die Korrelation zwischen Solarium-Besuchen (regelmäßig, gelegentlich und nie) und den Baseline-Vitamin D-Serumspiegeln wurde mit dem ANOVA-, Post-Hoc- und dem Mann-Whitney-U-Test untersucht. Die Gesamtsignifikanz der Unterschiede zwischen den Gruppen beträgt im ANOVA-Test $p = 0,150$. Anhand der Daten ließ sich kein Zusammenhang zwischen Sonnenstudio-Besuchen und dem Vitamin D-Serumspiegel feststellen. Es zeigte sich der Trend, dass regelmäßige Sonnenbank-Nutzung den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel erhöht (24,45 ng/ml). Wohingegen Patienten, die gelegentlich (8,80 ng/ml) oder nie ein Solarium besuchen (10,90 ng/ml), deutlich niedrigere Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen aufwiesen (regelmäßige zu gelegentliche Solarium-Besuche $p = 0,398$, regelmäßige Solarium-Besuche zu nie $p = 0,166$) (Abb. 34, Tab. 11)

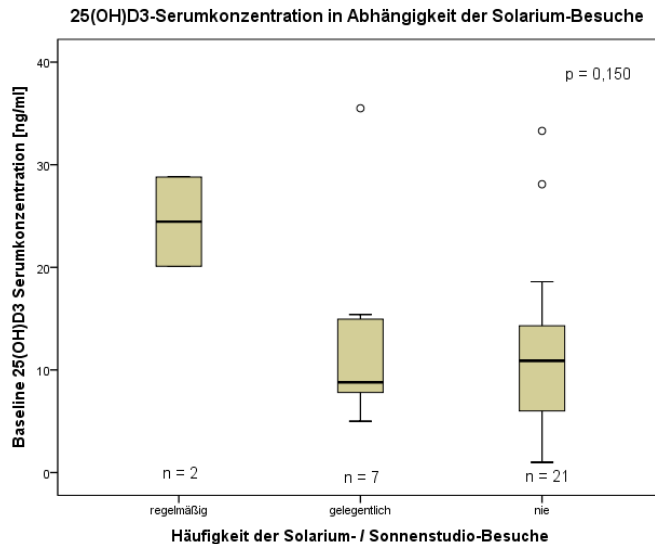


Abbildung 34:

Abhängigkeit der Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration von der Häufigkeit der Sonnenstudio oder Solarium-Besuche.

Patienten die angaben, regelmäßig ins Sonnenstudio zu gehen zeigten höhere Baseline-25(OH)D₃-Serumwerte als Patienten die gelegentlich oder nie die Sonnenbank besuchten. Das Signifikanzniveau wurde jedoch nicht erreicht.

Dargestellt sind die Medianwerte sowie die 25. – 75. Perzentile. Die Extremwerte der jeweiligen Gruppe sind mit ° gekennzeichnet.

3.3.8 Sonnencreme-Gebrauch

Die Korrelation zwischen Sonnencreme-Gebrauch (regelmäßig, gelegentlich und nie) und den Baseline-Vitamin D-Serumspiegeln wurde anhand des Patientenfragebogens ermittelt. Hierzu sollten die Patienten Auskunft geben, wie häufig sie einen Sonnenschutz (Creme, Lotion, Gel, Öl oder Spray mit Lichtschutz-Faktor) verwendeten. Die Ergebnisse sind in Abb. 35 und Tab. 11 dargestellt. Die Zusammenhänge wurden mit dem ANOVA- und Post-Hoc-Test (Bonferroni) errechnet.

Patienten, die regelmäßig Sonnencreme verwendeten, zeigten signifikant höhere 25(OH)D₃-Baseline-Serumkonzentrationen (16,8 ng/ml) als Patienten die gelegentlich (11,40 ng/ml) oder nie (6,20 ng/ml) einen Sonnenschutz benutzen. Die Gesamtsignifikanz beträgt p = 0,052. Der p-Wert „regelmäßiger“ Solarium-Besuche versus „nie“ beträgt 0,049 und erreicht das Signifikanzniveau p = 0,05. Die Signifikanz zwischen „regelmäßigen“ versus „gelegentlichen“ Solarium-Besuchen beträgt p = 0,430.

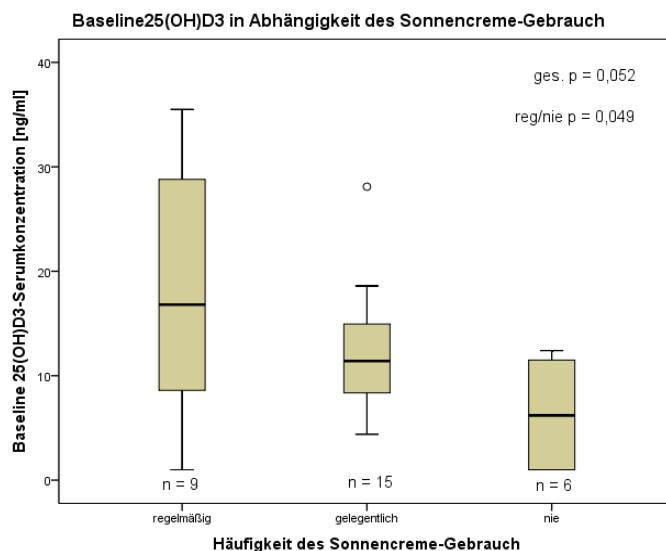


Abbildung 35:

Abhängigkeit der Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration von der Häufigkeit des Sonnencreme-Gebrauchs.

Patienten die angaben, regelmäßig Gebrauch von Sonnencreme machten zeigten signifikant höhere Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel als Patienten die nie Sonnencreme verwendeten (p = 0,049).

Dargestellt sind die Medianwerte sowie die 25. – 75. Perzentile. Die Extremwerte der jeweiligen Gruppe sind mit ° gekennzeichnet.

Ergebnisse

Tabelle 11:

Zusammenfassung der durch die Patientenfragebogen ermittelten Parameter und ihren Einfluss auf den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel. Es wurde die Patientenzahl, Mittelwert und Median des Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration, sowie die Standardabweichung und die Gesamtsignifikanz (ANOVA) aufgezeigt.

Variable	n	Baseline-25(OH)D ₃ -Serumkonzentration		p-Werte
		Mittelwert (SD) [ng/ml]	Median[ng/ml]	
Geschlecht				0,699
Männlich	16	11,56 (10,14)	8,90	
Weiblich	25	12,72 (8,705)	10,50	
Hauterkrankung				0,163
Neurodermitis	5	14,34 (8,86)	13,3	
Psoriasis	19	11,49 (11,09)	8,6	
andere Hauterkrankungen	17	12,53 (7,13)	11,4	
Haut-Typ nach Fitzpatrick				0,424
Keltisch, nordischer Haut-Typ	7	14,46 (8,1)	14,3	
Misch-Typ	12	10,10 (8,36)	11,15	
Mediterraner, dunkler Haut-Typ	11	14,72 (10,4)	10,3	
Fischverzehr				0,163
1x- mehrmals /Woche	2	6,20 (0,283)	6,20	
nie	27	13,74 (9,07)	11,50	
Solarium- Besuche				0,150
Regelmäßig	2	24,45 (6,15)	24,45	
Gelegentlich	7	13,45 (10,40)	8,80	
Nie	21	11,46 (8,34)	10,90	
Sonnencreme- Gebrauch				0,052
Regelmäßig	9	17,77 (12,48)	16,80	
Gelegentlich	15	12,41 (6,29)	11,40	
Nie	6	6,38 (4,91)	6,20	
Alter	50	48,52 (16,24)	48,0	0,823
BMI	50	27,0 (6,2)	25,2	0,109

3.3.9 Polymorphismen im Vitamin D-System (VDR, VDBP, CYP2R1) und Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel

Von insgesamt 38 Studienteilnehmern waren sowohl Blutproben zur Genotypisierung als auch zur Messung des Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegels verfügbar. Anhand dieser Proben wurde mittels ANOVA-Test untersucht, ob die Genotypen der jeweiligen Polymorphismen den 25(OH)D₃-Serumspiegel maßgeblich determinieren. Die Ergebnisse sind in Tab. 12 dargestellt, im nachfolgenden Text sind die Assay Genotypen beschrieben, die DNA-Genotypen sind in eckigen Klammern ergänzt.

Zusammenfassend zeigten die Genotypen von drei der untersuchten Polymorphismen (SNP) (rs 4588, rs1155563 und rs2282679) signifikant ($p \leq 0,01$) unterschiedliche Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen. Diese sind rs4588 ($p = 0,028$), rs1155563 ($p = 0,040$) und rs2282679 ($p = \text{Wert } 0,049$) allesamt SNP im VDBP. Im SNP rs4588 wies der homozygote G/G-[C/C]-Haplotyp mit 12,3 ng/ml die höchste mediane Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen auf, gefolgt wurde er von heterozygotem G/T-[C/A]-Genotyp mit 9,9 ng/ml. Ein Patient war Träger des T/T-[A/A]-Genotyps, und wies eine mediane Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze von 4 ng/ml auf.

Im SNP rs1155563 hatte der homozygote Genotyp A/A-[T/T] mit 11,5 ng/ml die höchste Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration, während der heterozygote G/A-[C/T]-Haplotyp mit 6,4 ng/ml deutlich reduzierte Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel aufwies. Es konnte kein homozygoter G/G-[C/C]-Träger nachgewiesen werden.

Träger des homozygoten T/T-[A/A]-Genotyp im SNP rs2282679 zeigten mit 11,5 ng/ml die höchste medianen Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration. Heterozygote Patienten-G/T-[C/A] wiesen mit 10,6 ng/ml nur leicht reduzierte Baseline-25(OH)D₃-Serumlevel auf. Lediglich 1 Patient war Träger des homozygoten G-[C]-Allels und wies eine Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze auf.

Diese Ergebnisse lassen schlussfolgern, dass die Genotypen der SNP rs4588, rs1155563 und rs2282679 den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel maßgeblich beeinflussen. Die medianen Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel in Abhängigkeit der Genotypen wurden für die drei signifikanten SNP in Abb. 36 noch einmal gesondert dargestellt.

Tabelle 12: Baseline 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit der SNP-Genotypen (nachfolgende Seite).

Ergebnisse

Tab. 12

Gen-SNP	DNA-Genotyp	Assay-Genotyp	n	[%]	Baseline-25(OH)D ₃ - Serumkonzentration (ng/ml)			p-Wert
					Mittelwert	SD	Median	
VDBP rs4588	C / A	G / T	20	[52,6]	11,27	8,7	9,9	0,028
	C / C	G / G	17	[44,7]	14,81	9,9	12,3	
	A / A	T / T	1	[2,6]	1,0	0	1,0	
VDBP rs7041	T / G	A / C	21	[55,3]	11,6	8,0	10,9	0,855
	T / T	A / A	5	[13,2]	13,9	13,7	11,0	
	G / G	C / C	12	[31,6]	13,8	10,2	11,0	
VDBP rs1155563	C / T	G / A	17	[44,7]	9,43	7,4	6,4	0,040
	T / T	A / A	21	[55,3]	15,1	10,1	11,5	
	C / C	G / G	0	-	-	-	-	
VDBP rs2282679	C / A	G / T	20	[52,6]	12,4	9,2	10,6	0,049
	C / C	G / G	1	[2,6]	1,0	-	1,0	
	A / A	T / T	17	[44,7]	13,4	9,5	11,5	
VDR rs7975232	A / C	A / C	15	[39,5]	11,8	10,2	8,8	0,667
	A / A	A / A	16	[42,1]	13,6	9,2	12,4	
	C / C	C / C	7	[18,4]	11,9	9,0	11,4	
VDR rs731236	T / C	A / G	13	[33,3]	12,8	10,3	9,5	0,814
	T / T	A / A	14	[36,8]	11,0	7,4	10,85	
	C / C	G / G	11	[28,9]	14,3	10,9	12,3	
VDR rs757343	G / A	C / T	7	[18,4]	10,8	6,6	10,3	0,870
	G / G	C / C	29	[76,3]	13,1	10,2	10,5	
	A / A	T / T	2	[5,2]	12,0	0,6	11,95	
VDR rs2107301	T / C	A / G	13	[34,2]	13,6	9,4	11,4	0,658
	T / T	A / A	4	[10,5]	8,8	5,3	10,9	
	C / C	G / G	21	[55,3]	12,7	10,1	10,5	
VDR rs11574143	G / A	C / T	8	[21,1]	12,3	4,7	12,0	0,431
	G / G	C / C	30	[78,9]	12,7	10,3	10,25	
	A / A	T / T	0	-	-	-	-	
CYP2R1 rs2060793	A / G	A / G	24	[63,2]	13,5	10,8	11,45	0,915
	A / A	A / A	3	[7,9]	9,3	3,8	10,5	
	G / G	G / G	11	[28,9]	11,5	6,8	10,3	

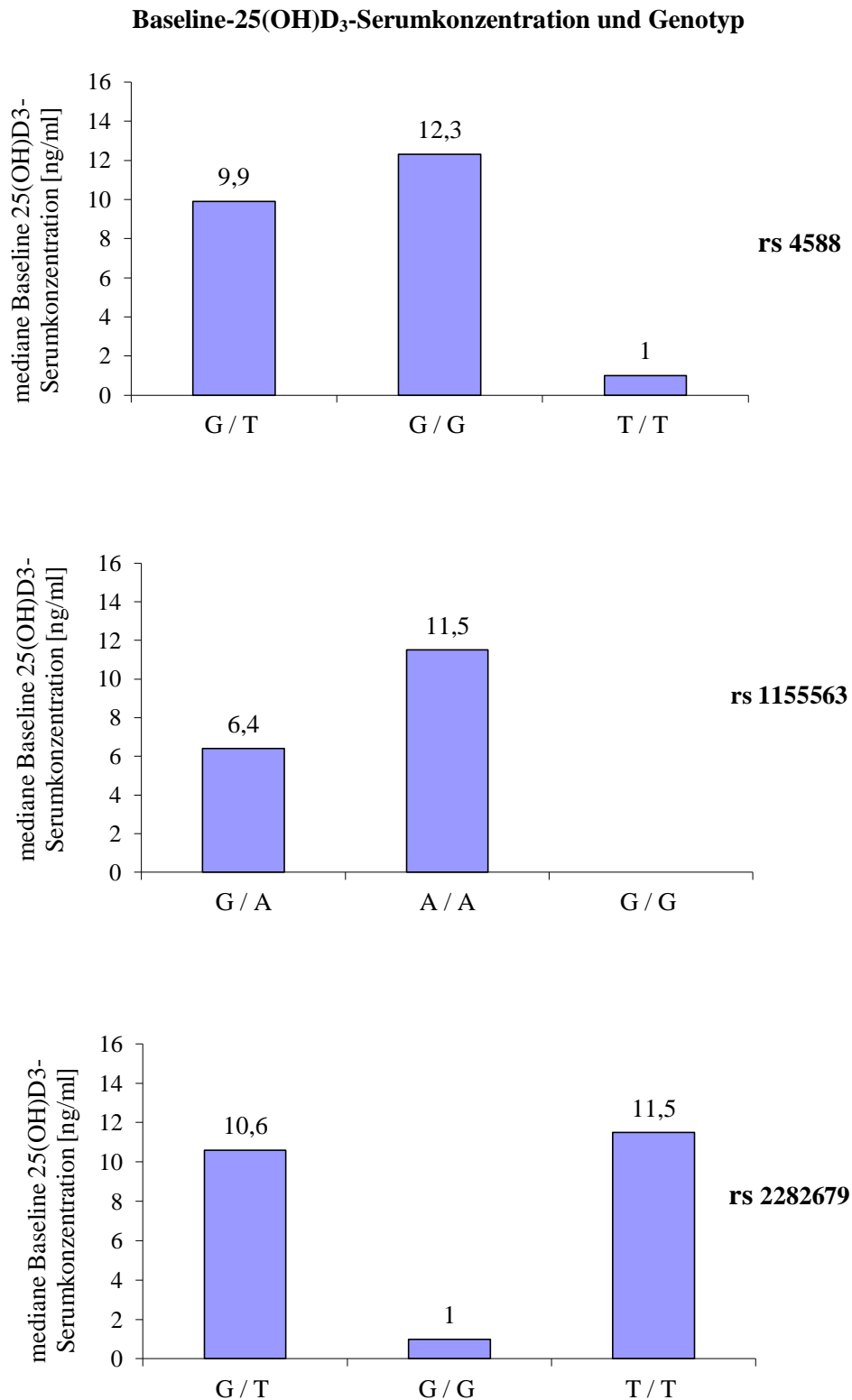


Abbildung 36: Die drei SNP des VDBP mit signifikanten Unterschieden im Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel. Die jeweiligen Assay-Genotypen sowie die mediane Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration wurden dargestellt.

Die für Vitamin D-Mangel risikobehafteten, homozygoten Genotypen zeigten die niedrigsten Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen (der G/G Genotyp in rs1155563 wurde bei keinem der untersuchten Patienten nachgewiesen). Heterozygote Patienten wiesen mittlere, und der Wildtyp die höchsten 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen auf.

3.4 Veränderungen im 25(OH)D₃-Serumspiegel unter nUVB- und PUVA-Therapie

Für diese Untersuchungen wurden die 25(OH)D₃-Serumspiegel nach einer und zwei Wochen nUVB-Therapie gemessen. Einige Patienten verließen die Klinik bereits nach einer Woche und führten die UV-Therapie z.T. in ambulanten Praxen fort, wodurch für die Messungen nach 2 Wochen deutlich weniger Proben zur Verfügung standen. Insgesamt betrug die mediane, akkumulierte Strahlungs-dosis der nUVB-Gruppe 0,9 J/cm² nach einer, und 1,9 J/cm² (ist die Gesamtdosis aus erster und zweiter Behandlungswoche) nach zwei Wochen nUVB-Therapie. In der nUVB-Gruppe stieg dabei die mediane 25(OH)D₃-Serumkonzentration nach einer Woche um 2,1 ng/ml von Baseline 11,4 ng/ml auf 13,5 ng/ml an ($p = 0,116$, $n = 31$), (Abb. 37 / Tab. 13). In der zweiten Woche stieg die mediane 25(OH)D₃-Serumkonzentration um 6,65 ng/ml von 13,5 ng/ml auf 20,15 ng/ml an. Insgesamt war der 25(OH)D₃-Serumspiegel nach zwei Wochen nUVB-Therapie signifikant, um 8,75 ng/ml von Baseline 11,4 ng/ml auf 20,15 ng/ml angestiegen (p -Wert $< 0,001$, $n = 22$) (Abb. 38 / Tab. 14).

Nachfolgend wurde aus der applizierten UV-Dosis der ersten (0,9 J/cm²) und zweiten Therapie-Woche (1,0 J/cm²) sowie dem 25(OH)D₃-Anstieg innerhalb der ersten (2,1 ng/ml) und zweiten Woche (6,65 ng/ml) der mittlere Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration je Joule berechnet. Dieser beläuft sich auf 2,3 ng/J (2,1 ng/ml bei 0,9 J/cm²) in der ersten und 6,65 ng/J (6,65 ng/ml bei 1,0 J/cm²) in der zweiten Woche nUVB-Therapie. Diese Werte ergeben sich rein rechnerisch aus den Medianwerten, ohne Einflüsse wie z.B. den Hauttyp zu berücksichtigen. Folglich steigt die 25(OH)D₃-Serumkonzentration im zeitlichen Verlauf an.

Auch von den Patienten mit PUVA-Therapie wurden vor Behandlungsbeginn sowie nach einer ($n = 15$) und zwei Wochen ($n = 11$) die 25(OH)D₃-Serumspiegel analysiert. Die mittlere akkumulierte Strahlungs-dosis der PUVA-Kontrollgruppe betrug 2,75 J/cm² nach der ersten, sowie 6,0 J/cm² nach der zweiten Therapie-Woche. Abgesehen von einem diskreten 25(OH)D₃-Abfall um 0,5 ng/ml nach einer Woche (Abb. 37 / Tab. 13), blieb die mediane 25(OH)D₃-Serumkonzentration konstant (Tab. 14). Folglich waren unter PUVA-Therapie keine signifikanten Veränderungen des 25(OH)D₃-Serumspiegels zu verzeichnen (p -Wert 0,884).

Zusammenfassend steigt der 25(OH)D₃-Serumspiegel unter nUVB-Therapie signifikant an, während eine PUVA-Behandlung keine relevanten Veränderungen der 25(OH)D₃-Serumkonzentration zu bewirken vermag. Die Veränderungen des 25(OH)D₃-Serumspiegels im Verlauf der UV-Behandlung sind in Tabelle 13 und 14 sowie Abbildung 40 und 41 aufgeführt. Die Abbildungen geben den prozentualen Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel nach UV-Therapie wieder. Die innerhalb der Abbildung aufgeführten p -Werte wurden mit dem Mann-Whitney-Test errechnet.

Tabelle 13:

Die 25(OH)D₃-Serumkonzentration der nUVB und PUVA-Gruppe zu den jeweiligen Messzeitpunkten gegenübergestellt.

Nach zwei Wochen zeigt sich ein signifikanter Unterschied der 25(OH)D₃-Serumkonzentration zwischen nUVB- und PUVA-Therapie (die Werte sind als Median mit 25. - 75. Perzentile angegeben)

Messzeitpunkt	<u>nUVB</u>		<u>PUVA</u>		p-Wert
	25(OH)D ₃ -Konz.[ng/ml]	n	25(OH)D ₃ -Konz. [ng/ml]	n	PUVA vs nUVB
Baseline	11,4 (5,3 - 17,2)	24	10 (6,7 – 13,3)	17	0,832
1 Woche	13,5 (6,8 – 17,4)	31	9,5 (6,5 – 13,8)	15	0,206
2 Wochen	20,15 (16,1 – 28,9)	22	10,1 (7,1 – 14,9)	11	< 0,001

Tabelle 14:

Zeigt die 25(OH)D₃-Serumkonzentration der nUVB und PUVA-Gruppe im zeitlichen Verlauf.

Nach zwei Wochen zeigt sich ein signifikanter Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration unter nUVB-Therapie, während PUVA-Therapie zu keinen nennenswerten Veränderungen der 25(OH)D₃-Serumspiegel führt (die Werte sind als Median mit 25. - 75. Perzentile angegeben)

UV-Therapie	25(OH)D ₃ -Serumkonzentration [ng/ml]			p-Werte		
	Baseline (0)	1. Woche (1)	2. Woche (2)	0 - 1	0 - 2	1 - 2
nUVB	11,4 (5,3 - 17,2)	13,5 (6,8 – 17,4)	20,15 (16,1 – 28,9)	0,116	< 0,001	0,002
PUVA	10 (6,7 – 13,3)	9,5 (6,5 – 13,8)	10,1 (7,1 – 14,9)	0,184	0,887	0,205

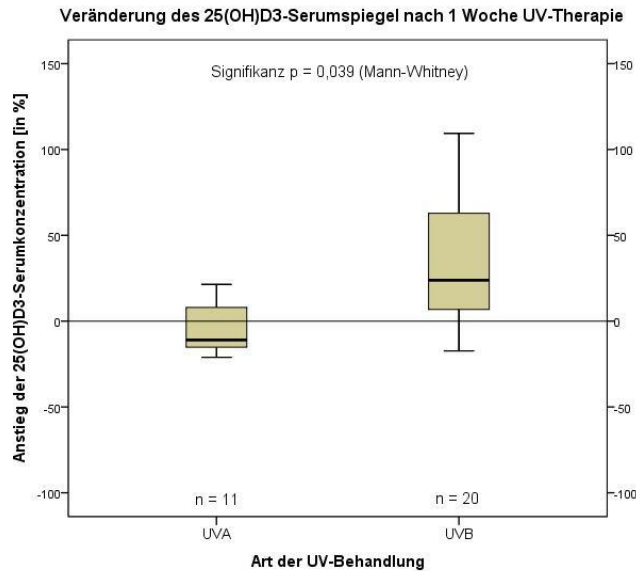


Abbildung 37:

Der signifikante Anstieg im 25(OH)D₃-Serumspiegel (in %) nach einer Woche nUVB-Therapie ($p = 0,039$).

PUVA-Therapie bewirkte ein minimales, nicht signifikantes Absinken der 25(OH)D₃-Serumkonzentration nach einer Woche.

Angegeben ist der Median sowie die 25. - 75. Perzentile. Drei Ausreißer in der nUVB-Gruppe sowie ein Ausreißer in der PUVA-Gruppe sind in der Abbildung nicht dargestellt.

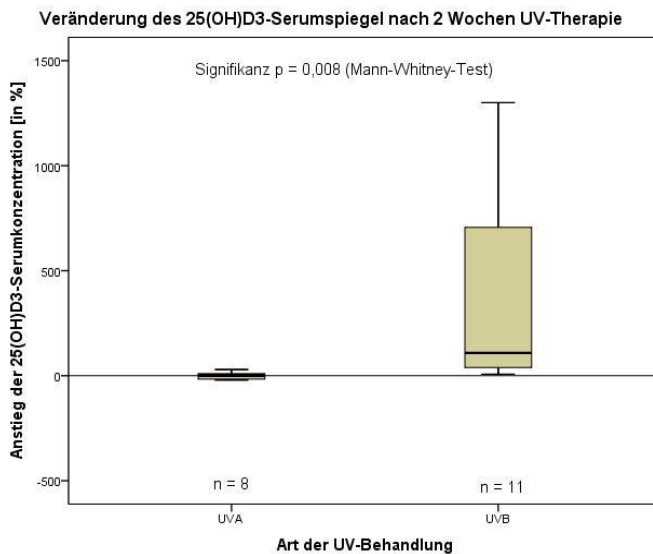


Abbildung 38:

Nach zwei Wochen UV-Therapie zeigt die nUVB-Gruppe einen hoch signifikanten, prozentualen Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration ($p = 0,008$).

Unter PUVA-Therapie sind keine wesentlichen Veränderungen der 25(OH)D₃-Serumspiegel zu verzeichnen.

Angegeben ist der Median sowie die 25. - 75. Perzentile. Zwei Ausreißer in der nUVB-Gruppe sowie ein Ausreißer/Extremwert in der PUVA-Gruppe sind in der Abbildung nicht dargestellt.

3.5 Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel und der 25(OH)D₃-Anstieg unter nUVB-Therapie

Die statistische Auswertung ergab, dass die Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration einen maßgeblichen Einfluss auf den Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel nach nUVB-Therapie hat. So verzeichnen insbesondere Patienten mit niedrigen Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen von <10 ng/ml einen stärkeren Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel im Vergleich zu Patienten, die bereits zu Beginn der nUVB-Therapie Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen von > 10 ng/ml aufwiesen.

Der Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel wies nach zwei Wochen nUVB-Therapie eine hoch signifikante, negative Korrelation zur Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration auf ($p = 0,001$). Der Korrelationskoeffizient betrug $r = -0,835$ und war auf dem Signifikanzniveau $p = 0,01$ signifikant.

(Abb. 40). Nach einer Woche nUVB-Therapie betrug der p-Wert 0,084 ($r = -0,396$) und verfehlte nur knapp das Signifikanzniveau (Abb. 39). Die Signifikanzwerte und Korrelationskoeffizienten wurden mit dem Spearman-Rho Test errechnet.

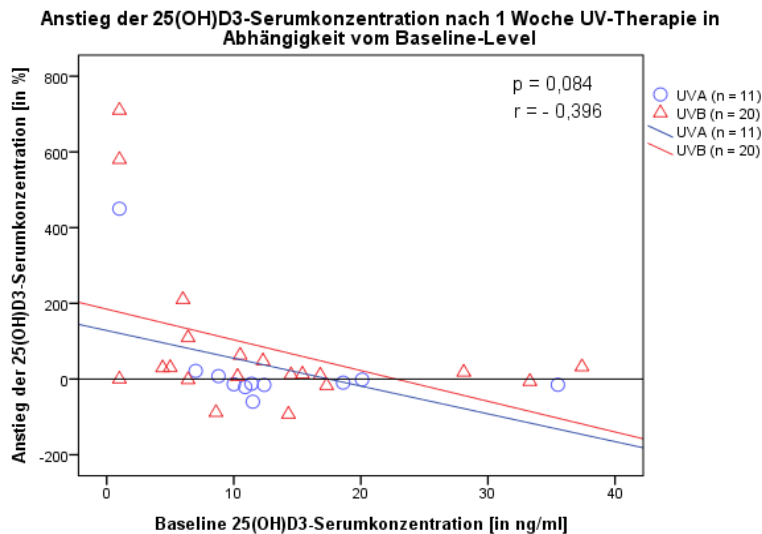


Abbildung 39:

Die Grafik zeigt den Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration unter nUVB und PUVA-Therapie nach 1 Woche.

Patienten mit niedrigen Baseline-werten zeigten einen starken Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration unter nUVB-Therapie ($p = 0,084$). PUVA Therapie bewirkt keinen relevanten Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration.

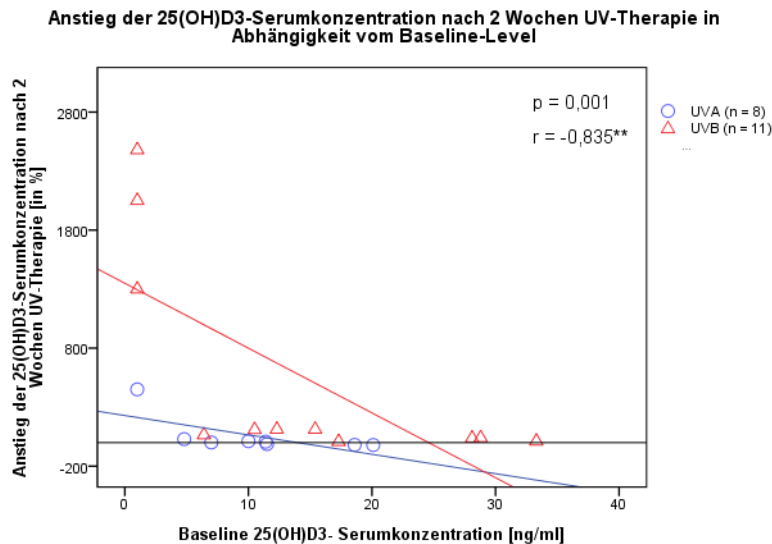


Abbildung 40:

Die Grafik zeigt den Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration unter nUVB und PUVA-Therapie nach 2 Wochen.

Patienten mit niedrigen Baseline-werten zeigten einen signifikanten Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration unter nUVB-Therapie ($p = 0,001$). PUVA Therapie bewirkt keinen relevanten Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration

**** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant**

3.6 Verhalten von Blutdruck, CRP, HbA_{1c}, Cholesterin und Triglyceride unter UV-Therapie

Die Arbeitsgruppe von Osmancevic publizierte nach UV-Therapie positive Effekte auf den Blutdruck und verschiedene Laborparameter (CRP, HbA_{1c}, Cholesterin, Triglyceride und LDL/HDL Index)(Osmancevic et al., 2009). Die Wirkung wird den steigenden 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen zugeschrieben. In der vorliegenden Studie wurde geprüft, ob innerhalb unseres Patientenkollektives,

eine Erhöhung der 25(OH)D₃-Serumkonzentration via nUVB-Therapie mit positiven Effekten auf o.g. Parameter assoziiert ist.

In Kapitel 3.4 „Veränderungen im 25(OH)D₃-Serumspiegel nach UV-Therapie“ konnte gezeigt werden, dass durch die PUVA-Therapie ein Anstieg der 25(OH)D₃-Level unterbleibt. Aus diesem Grund diente die PUVA-Gruppe für die folgende Untersuchung als Kontrollgruppe. Dadurch konnte die Wahrscheinlichkeit eines BIAS durch die stationären bzw. ambulanten Behandlungsbedingungen reduziert werden.

Es wurden die Laborparameter (CRP, HbA_{1c}, HDL, LDL, Triglyceride, Cholesterin, LDL/HDL Index) und Blutdruckwerte vor Beginn der UV-Therapie, sowie nach einer und zwei Wochen UV-Behandlung analysiert. Wurden die gemessenen Parameter zum jeweiligen Messzeitpunkt (0, 1 und 2 Wochen) miteinander verglichen, zeigen weder die Blutdruckwerte noch die Laborparameter einen signifikanten Unterschied zwischen der nUVB-Therapie und PUVA-Kontrollgruppe. Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 dargestellt. Die angegebenen Daten sind als Medianwerte mit 25. - 75. Perzentile angegeben. Die p-Werte wurden mit dem gepaarten t-Test errechnet.

Nachdem zwischen den beiden Therapiegruppen (nUVB + PUVA) zu den Messpunkten keine signifikanten Veränderungen gefunden wurden, ist der Verlauf der zu untersuchten Parameter unter nUVB- und PUVA-Therapie gesondert analysiert worden. Hierbei ergab sich in der zweiten Woche ein signifikanter Anstieg der LDL-Serumkonzentration von 110 mg/dl auf 126 mg/dl (p-Wert 0,023) in der nUVB-Gruppe, welcher in der PUVA-Kontrollgruppe nicht zu verzeichnen war. Weiterhin ergab die Auswertung einen signifikanten Anstieg des LDL/HDL Index zwischen erster und zweiter nUVB-Behandlungswoche (p-Wert = 0,030). Auch diese Beobachtung blieb in der PUVA-Kontrollgruppe aus. In der PUVA-Gruppe zeigte sich hingegen ein signifikantes Absinken des systolischen Blutdruck von 145 mmHg auf 128 mmHg nach zwei Wochen (p = 0,021). Alle weiteren Parameter wie BMI als auch die Laborwerte (CRP, HbA_{1c}, HDL, Triglyceride, und gesamt-Cholesterin) wiesen weder in der nUVB- noch in der PUVA-Kontrollgruppe relevante Veränderungen auf. Die Resultate sind in Tabelle 15 für nUVB und PUVA aufgeführt. Die angegebenen Daten sind als Medianwerte mit 25. - 75. Perzentile angegeben. Die p-Werte wurden mit dem paired t-Test errechnet.

Tabelle 15: Unterschied der Labor- und Blutdruckwerte zwischen nUVB- und PUVA-Kontrollgruppe zu den gegebenen Messzeitpunkten (Baseline, eine Woche, zwei Wochen). Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen UVB- und PUVA-Therapie. Die Daten sind als Medianwerte (25. - 75.Perzentile) angegeben.

Baseline	nUVB	n	PUVA	n	p-Wert PUVA versus nUVB
Akkumulierte Dosis [J/cm ²]	-	35	-	20	-
Blutdruck sys [mmHg]	130 (118 – 144)	35	145 (120 – 154)	19	0,297
Blutdruck dias [mmHg]	73 (65 – 84)	35	81 (73 – 95)	19	0,534
CRP [ng/l]	2,4 (1,1 – 4,7)	33	3,1 (1,2 – 7,0)	21	0,770
HbA _{1c} in mM	36 (31 – 43)	25	36 (31 – 44)	20	0,963
HbA _{1c} in %	5,4 (5,0 – 6,1)	25	5,4 (5,0 – 6,2)	20	0,963
HDL-Cholesterin [mg/dl]	57 (40 - 68)	27	59 (38 – 68)	21	0,560
LDL- Cholesterin [mg/dl]	114 (93 - 150)	25	128 (89 - 146)	16	0,925
Triglyceride [mg/dl]	136 (102 - 193)	34	137 (78 - 233)	21	0,795
Cholesterin ges [mg/dl]	207 (172 - 230)	34	190 (165 - 233)	21	0,716
LDL/ HDL Index	2,13 (1,33 – 3,50)	25	2,67 (1,51 – 3,67)	16	0,541
1 Woche UV-Therapie					
Akkumulierte Dosis [J/cm ²]	0,90 (0,60 – 1,35)	35	2,75 (1,50 – 3,50)	20	-
Blutdruck sys [mmHg]	125 (115 - 135)	35	130 (122 - 143)	17	0,648
Blutdruck dias [mmHg]	77 (67 - 83)	35	78 (69 - 85)	17	0,814
CRP [ng/l]	1,6 (0,7 – 3,6)	25	1,5 (0,1 – 3,7)	10	0,659
HbA _{1c} in mM	32 (29 - 35)	17	38 (29 – 44)	8	0,114
HbA _{1c} in %	5,08 (4,6 – 5,6)	17	5,63 (4,6 – 6,2)	8	0,114
HDL-Cholesterin [mg/dl]	56 (40 - 69)	23	51 (40 - 61)	11	0,726
LDL- Cholesterin [mg/dl]	110 (92 - 151)	23	126 (99 - 162)	11	0,554
Triglyceride [mg/dl]	173 (125 - 223)	26	162 (82 - 211)	11	0,654
Cholesterin ges [mg/dl]	204 (190 - 220)	26	208 (173 – 252)	11	0,921
LDL/ HDL Index	1,88 (1,34 – 4,20)	23	2,71 (1,55 – 4,31)	11	0,904
2 Wochen UV-Therapie					
Akkumulierte Dosis [J/cm ²]	1,9 (1,4 – 2,9)	22	6,0 (4,25 – 7,75)	13	-
Blutdruck sys	130 (117 - 140)	20	128 (119 - 136)	13	0,915
Blutdruck dias	81 (72 - 90)	20	80 (71 - 85)	13	0,924
CRP	3,0 (1,4 – 6,8)	13	2,0 (0,6 – 4,9)	7	0,662
HbA _{1c} in mM	38 (32 - 41)	11	35 (31 - 48)	6	0,880
HbA _{1c} in %	5,63 (4,8 – 5,9)	11	5,35 (5,1 – 6,5)	6	0,880
HDL-Cholesterin [mg/dl]	49 (41 - 79)	15	43 (28 - 60)	7	0,231
LDL- Cholesterin [mg/dl]	126 (113 - 142)	15	145 (91 - 160)	7	0,526
Triglyceride	146 (85 - 175)	15	207 (127 - 464)	7	0,098
Cholesterin ges	217 (184 - 234)	15	224 (206 - 248)	7	0,397
LDL/ HDL Index	2,20 (1,56 – 3,58)	15	3,5 (2,47 – 3,95)	7	0,169

Tabelle 16:

Die Veränderungen der untersuchten Labor- und Gesundheitsparameter unter nUVB- und PUVA-Therapie im zeitlichen Verlauf. Die Signifikanzwerte zwischen den einzelnen Messwerten (0-1 = Baseline / eine Woche, 0-2 = Baseline / zwei Wochen, 1-2 = eine Woche / zwei Wochen) sind als p-Wert angegeben. Unter nUVB-Therapie steigt der LDL/HDL Index nach zwei Wochen signifikant an, während unter UV-Therapie der systolische Blutdruck nach zwei Wochen signifikant abgesunken ist.

nUVB	Baseline (0)	1. Woche (1)	2. Woche (2)	p-Werte		
				0 - 1	0 - 2	1 - 2
Variable						
Akkumulierte Dosis [J/cm ²]	0,0	0,90 (0,60 – 1,35)	1,9 (1,4 – 2,9)	-	-	-
Blutdruck sys [mmHg]	130 (118 – 144)	125 (115 - 135)	130 (117 - 140)	0,253	0,341	0,830
Blutdruck dias [mmHg]	73 (65 – 84)	77 (67 - 83)	81 (72 - 90)	0,647	0,301	0,485
CRP [ng/l]	2,4 (1,1 – 4,7)	1,6 (0,7 – 3,6)	3,0 (1,4 – 6,8)	0,928	0,459	0,758
HbA _{1c} in mM	36 (31 – 43)	32 (29 - 35)	38 (32 - 41)	0,104	0,772	0,421
HbA _{1c} in %	5,44 (5,0 – 6,1)	5,08 (4,6 – 5,6)	5,63 (4,8 – 5,9)	0,104	0,772	0,421
HDL-Cholesterin [mg/dl]	57 (40 - 68)	56 (40 - 69)	49 (41 - 79)	0,332	0,259	0,457
LDL- Cholesterin [mg/dl]	114 (93 - 150)	110 (92 - 151)	126 (113 - 142)	0,112	0,850	0,023
Triglyceride [mg/dl]	136 (102 - 193)	173 (125 - 223)	146 (85 - 175)	0,094	0,795	0,358
Cholesterin ges [mg/dl]	207 (172 - 230)	204 (190 - 220)	217 (184 - 234)	0,647	0,993	0,143
LDL/ HDL Index	2,04 (1,33 – 3,5)	1,88 (1,34 – 4,19)	2,20 (1,56 – 3,58)	0,999	0,030	0,421
PUVA						
Variable						
Akkumulierte Dosis [J/cm ²]	0,0	2,75 (1,50 – 3,50)	6,0 (4,25 – 7,75)	-	-	-
Blutdruck sys [mmHg]	145 (120 – 154)	130 (122 - 143)	128 (119 - 136)	0,272	0,021	0,139
Blutdruck dias [mmHg]	81 (73 – 95)	78 (69 - 85)	80 (71 - 85)	0,272	0,142	0,726
CRP [ng/l]	3,1 (1,2 – 7,0)	1,5 (0,1 – 3,7)	2,0 (0,6 – 4,9)	0,170	0,615	0,353
HbA _{1c} in mM	36 (31 – 44)	38 (29 – 44)	35 (31 - 48)	0,752	0,654	0,678
HbA _{1c} in %	5,44 (5,0 – 6,2)	5,63 (4,6 – 6,2)	5,35 (5,1 – 6,5)	0,752	0,654	0,678
HDL-Cholesterin [mg/dl]	59 (38 – 68)	51 (40 - 61)	43 (28 - 60)	0,220	0,233	0,500
LDL- Cholesterin [mg/dl]	128 (89 - 146)	126 (99 - 162)	145 (91 - 160)	0,543	0,104	0,622
Triglyceride [mg/dl]	137 (78 - 233)	162 (82 - 211)	207 (127 - 464)	0,789	0,224	0,818
Cholesterin ges [mg/dl]	190 (165 - 233)	208 (173 – 252)	224 (206 - 248)	0,969	0,068	0,739
LDL/ HDL Index	2,67 (1,51 – 3,67)	2,71 (1,55 – 4,31)	3,5 (2,47 – 3,95)	0,213	0,196	0,562

3.7 Einfluss des 25(OH)D₃-Serumspiegel auf das Frakturrisiko

Anhand des Patientenfragebogens wurde die Prävalenz unterschiedlicher Erkrankungen (Malignomen, Herz-Kreislauf-erkrankungen, Diabetes und Fraktur-Risiko) in Zusammenhang mit dem 25(OH)D₃-Serumspiegel untersucht. Lediglich eine geringe Anzahl der Patienten litt unter

Herz-Kreislauf-erkrankungen (n = 3), Diabetes (n = 5) oder Malignomen (n = 1). Weshalb auf eine statistische Auswertung dieser Erkrankungen verzichtet werden musste. Zum Frakturrisiko ließ sich eine deskriptive Statistik anfertigen.

Anhand des Patientenfragebogens wurde die Häufigkeit Osteoporose-bedingter Frakturen innerhalb des untersuchten Kollektivs bestimmt und auf Zusammenhänge mit dem 25(OH)D₃-Serumspiegel untersucht. Wirbelkörperfrakturen, distale Radiusfraktur sowie distale Humerusfraktur wurden dabei als „osteoporotische“ Frakturen definiert. Innerhalb des Patientenkollektivs wiesen 7 Patienten „osteoporotische“ Frakturen auf. Insgesamt 20 Patienten verzeichneten entweder eine „nicht-osteoporotische“ Fraktur oder gaben an, noch nie eine Fraktur erlitten zu haben. Es zeigte sich, dass Patienten, mit „osteoporotischen“ Frakturen geringere Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration (Median 6,0 ng/ml) aufwiesen als Patienten die keine oder andere Frakturen in der Historie angegeben hatten (Median 13,3 ng/ml). Das Signifikanzniveau wurde mittels ANOVA-Test errechnet und war mit p = 0,209 nicht signifikant (Abb. 41)

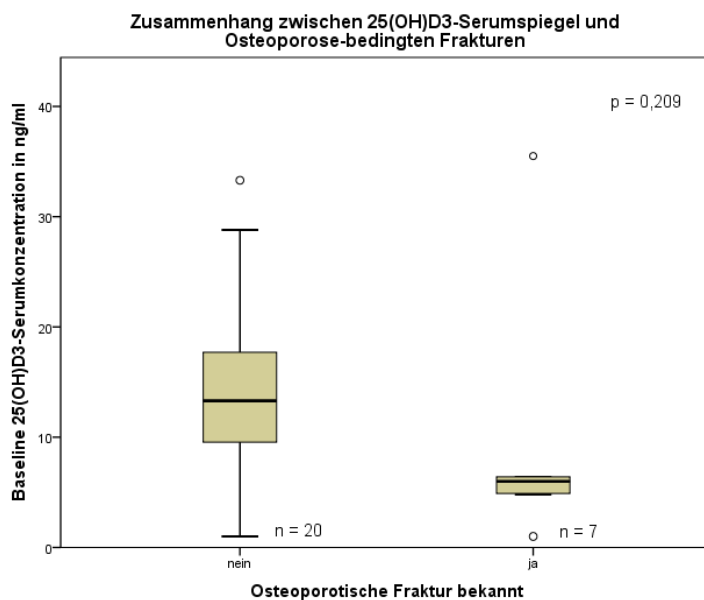


Abbildung 41:

Auftreten osteoporotischer Frakturen in Abhängigkeit des Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegels.

Patienten mit osteoporotischen Frakturen weisen geringere 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen auf, als Patienten die keine osteoporotische Fraktur angaben.

Angegeben ist der Median sowie die 25. - 75. Perzentile. Zwei Ausreißer wurde als ° dargestellt.

3.8 Polymorphismen im Vitamin D-System (VDR, VDBP, CYP2R1) und deren Prävalenz in dermatologischen Patienten sowie der gesunden Kontrollgruppe

Der folgende Abschnitt zeigt die Ergebnisse der Genotypisierungen. Um herauszufinden, ob eine Korrelation zwischen Hauterkrankungen und den Polymorphismen im Vitamin D-bindenden Protein (VDBP), Vitamin D-Rezeptor oder CYP2R1 besteht, wurden von 52 Patienten Blutproben entnommen und wie in Kapitel 2.3 „Genotypisierung der Polymorphismen“ beschrieben mit dem TaqMan-SNP-Assays genotypisiert. Zusätzlich wurden je 192 weibliche und 192 männliche DNA-Proben von

gesunden Probanden analysiert. Die gesunde Kontrollgruppe repräsentiert die Häufigkeitsverteilung der jeweiligen Genotypen innerhalb der gesunden Bevölkerung.

Für die statistische Auswertung wurden zunächst alle Hauterkrankungen (Neurodermitis, Psoriasis und andere Hauterkrankungen) als Gruppe „Haut-erkrankt“ definiert und die Prävalenz der Genotypen mit der Kontrollgruppe-Gruppe (KO) verglichen. Dabei zeigten insbesondere die VDR-SNP z.T. hoch signifikante Unterschiede in der Genotypen-Prävalenz zwischen der gesunden Kontrollgruppe und den Hauterkrankungen. Zu den signifikanten VDR-SNP zählen rs7975232 ($p = 0,000$), rs731236 ($p = 0,003$), rs2107301 ($p = 0,004$) und rs11574143 ($p = 0,003$).

Anschließend wurden die jeweiligen Hauterkrankungen gesondert gruppiert. Folglich wurden die Genotyp-Prävalenzen von Neurodermitis, Psoriasis, anderen Hauterkrankungen und der Kontrollgruppe im Chi-Quadrat Test miteinander verglichen. Hier wurden ebenfalls hoch signifikante Unterschiede bei VDR- und VDBP-Polymorphismen zwischen Patienten- und Kontrollgruppe gefunden. Dazu gehören rs4588 ($p = 0,005$), rs2282679 ($p = 0,006$), rs7975232 ($p = 0,006$), rs731236 ($p = 0,010$), rs2107301 ($p = 0,010$) sowie rs11574143 ($p = 0,010$). Durch die Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests kann geschlussfolgert werden dass zwischen Psoriasis, Neurodermitis, anderen Hauterkrankungen und der gesunden Kontrollgruppe, Unterschiede in den Genotyp-Prävalenzen vorhanden sind. Es lässt sich jedoch nicht erkennen, welche der Erkrankungsgruppen für den signifikanten Unterschied verantwortlich ist. Wegen der geringen Patientenzahl musste auf eine weiterführende deskriptive Analyse verzichtet werden.

Die Genotypenverteilung der Patienten- und Kontrollgruppe sowie die Signifikanzwerte aus dem Chi-Quadrat-Test (Likelihood-Quotient) sind in Tabelle 15 und 16 aufgeführt.

Ergebnisse

Tabelle 17:

Die Genotypen-Prävalenz innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe, sowie die p-Werte. Die p-Werte wurden mit dem Chi-Quadrat-Test (Likelihood-Quotient) errechnet.

Gen SNP	Haplotypen		KO-Gruppe		Alle Hauterkrankungen		p-Wert	Psoriasis		Neurodermitis		Andere Hauterkrankungen		p-Wert
	SNP Assay	/ NCBI	n	[%]	n	[%]		n	[%]	n	[%]	n	[%]	
VDBP rs4588	G / T	C / A	140	[39,1]	24	[48,0]	0,059	6	[26,1]	6	[100]	12	[57,1]	0,005
	G / G	C / C	194	[54,2]	24	[48,0]		16	[70]	0	[0]	8	[36,1]	
	T / T	A / A	24	[6,7]	2	[4,0]		1	[4,3]	0	[0]	1	[4,8]	
VDBP rs7041	A / C	T / G	180	[49,2]	28	[53,8]	0,081	10	[41,6]	4	[66,6]	14	[63,6]	0,039
	A / A	T / T	70	[19,1]	8	[15,4]		3	[12,5]	2	[33,3]	3	[13,6]	
	C / C	G / G	116	[31,7]	16	[30,8]		11	[45,8]	0	[0]	5	[22,7]	
VDBP rs1155563	G / A	C / T	128	[35,4]	22	[42,3]	0,241	8	[33,3]	5	[83,3]	9	[40,1]	0,150
	A / A	T / T	210	[58,2]	28	[53,9]		16	[66,6]	1	[16,6]	11	[50]	
	G / G	C / C	23	[6,4]	2	[3,9]		0	[0]	0	[0]	2	[9]	
VDBP rs2282679	G / T	C / A	119	[33,8]	25	[48,1]	0,160	6	[25]	6	[100]	13	[59,1]	0,006
	G / G	C / C	20	[5,7]	3	[5,8]		2	[8,3]	0	[0]	1	[4,5]	
	T / T	A / A	213	[60,5]	24	[46,1]		16	[66,6]	0	[0]	8	[36,4]	
VDR rs7975232	A / C	A / C	175	[47,0]	23	[44,2]	< 0,001	11	[45,8]	4	[66,6]	8	[36,4]	0,003
	A / A	A / A	94	[25,3]	21	[40,4]		10	[41,6]	2	[33,3]	9	[41]	
	C / C	C / C	103	[27,7]	8	[14,5]		3	[12,5]	0	[0]	5	[22,7]	

Ergebnisse

Tabelle 18: ff. Tab 17. Zeigt die Genotypen-Prävalenz innerhalb der Patienten- und Kontrollgruppe. Die p-Werte wurden mit dem Chi-Quadrat-Test (Likelihood-Quotient) errechnet.

Wurden alle Hauterkrankungen mit der gesunden KO-Gruppe verglichen zeigten vier SNP im VDR (rs7975232 rs731236 rs2107301 und rs11574143) signifikante Unterschiede in der Genotypen-Prävalenz. Wurden Psoriasis, Neurodermitis und die anderen Hauterkrankungen sowie die KO-Gruppe miteinander, verglichen zeigten die eben genannten Polymorphismen plus 3 SNP im VDBP (rs4588, rs7041 und rs2282679) signifikant unterschiedliche Genotyp Prävalenzen zwischen den Gruppen.

Gen SNP	Haplotypen		KO-Gruppe		p-Wert	Psoriasis		Neurodermitis		Andere Hauterkrankungen		p-Wert
	SNP Assay / NCBI		n	[%]		n	[%]	n	[%]	n	[%]	
VDR rs731236	A / G	T / C	161	[43,5]	0,003	9	[37,5]	4	[66,6]	11	[50,0]	0,010
	A / A	T / T	153	[41,4]		6	[25,0]	1	[16,6]	8	[36,4]	
	G / G	C / C	56	[15,1]		9	[37,5]	1	[16,6]	3	[13,6]	
VDR rs757343	C / T	G / A	66	[17,9]	0,045	3	[12,5]	2	[33,3]	5	[22,7]	0,061
	C / C	G / G	293	[79,6]		21	[87,5]	4	[66,6]	15	[68,2]	
	T / T	A / A	9	[2,4]		0	[0]	0	[0]	2	[9,0]	
VDR rs2107301	A / G	T / C	155	[41,6]	0,004	7	[29,2]	4	[66,6]	7	[31,8]	0,010
	A / A	T / T	30	[8,0]		1	[4,1]	1	[16,6]	2	[9,0]	
	G / G	C / C	187	[50,3]		16	[66,6]	1	[16,6]	13	[59,0]	
VDR rs11574143	C / T	G / A	63	[17,0]	0,003	2	[8,3]	2	[33,3]	7	[31,8]	0,010
	C / C	G / G	297	[80,1]		22	[91,6]	4	[66,6]	15	[68,1]	
	T / T	A / A	11	[2,9]		0	[0]	0	[0]	0	[0]	
CYP2R1 Rs2060793	A / G	A / G	186	[52,2]	0,374	14	[58,2]	3	[50,0]	11	[50,0]	0,453
	A / A	A / A	33	[9,3]		3	[12,5]	2	[33,3]	2	[9,0]	
	G / G	G / G	137	[37,5]		7	[29,2]	1	[16,6]	9	[41,0]	

4 Diskussion

Im folgenden Abschnitt sollen die Daten der vorgelegten Arbeit sowie deren Bedeutung diskutiert, und Vergleiche zu anderen Publikationen hergestellt werden. Am Ende des Kapitels ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse aufgeführt, worauf ein Abschnitt folgt, der die Limitationen der Studie aufzeigt. Basierend auf den Resultaten dieser Forschungsarbeit wurden abschließend Ansätze für weiterführende Untersuchungen erarbeitet.

4.1 Wie hoch ist die Vitamin D-Mangel-Prävalenz im untersuchten Patientenkollektiv?

Von 41 Studienteilnehmern waren die Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel verfügbar. Hiervon zeigten 85,4 % einen manifesten Vitamin D-Mangel mit Serumkonzentrationen von < 20 ng/ml auf. Zittermann beschreibt insuffiziente Vitamin D-Serumspiegel (10 - 20 ng/ml) bei 40 - 45 % der gesamtdeutschen Bevölkerung, zusätzliche 15 – 30 % der Bevölkerung zeigen einen manifesten Vitamin D-Mangel von < 10 ng/ml (Zittermann, 2010). Für Deutschland existieren weitere Untersuchungen die ähnlich hohe Vitamin D-Mangel-Prävalenzen (< 20 ng/ml) mit 57 – 58 % für Männer und Frauen aufzeigen. In den Wintermonaten stiegen diese Werte von 50 % (bei 1- bis 2-Jährigen) über 60 % (bei 18- bis 79-Jährigen) auf bis zu über 80 % (bei 11- bis 17-Jährigen) an (Hintzpeter, 2008). Diese Angaben lassen vermuten, dass der Vitamin D-Mangel ein deutlich größeres Ausmaß annimmt, als bisher angenommen. In der vorliegenden Studie wurden die Daten während der Wintermonate erhoben, was die hohe Vitamin D-Mangel-Prävalenz der Patientengruppe erklärt. Wobei die Patienten mit einer Prävalenz von 85 % einen deutlich höheren Vitamin D-Mangel aufweisen als die altersentsprechend, publizierten Wintermessungen von Hintzpeter (60 % Vitamin D Mangel für 18- bis 79-Jährige s.o.). Folglich sprechen die Ergebnisse der aktuellen Studie für eine erhöhte Vitamin D-Mangel-Prävalenz unter dermatologischen Patienten im Vergleich zur gesunden, deutschen Bevölkerung.

Dermatologische Erkrankungen stellen für die Patienten oft eine starke psychische Belastung dar, welche häufig mit einem Rückzug aus dem sozialen Leben vergesellschaftet ist. Es wäre möglich, dass die verminderten 25(OH)D₃-Serumspiegel als Folge verringerter Aktivitäten im Freien zu werten sind. Denkbar wäre ebenso, dass sich bedingt durch die Hauterkrankung die Fähigkeit zur dermalen Vitamin D-Synthese vermindert. Ob die erhöhte Vitamin D-Mangel-Prävalenz der untersuchten Patientengruppe die Ursache oder Folge der dermatologischen Grunderkrankung ist, sollte in weiterführenden Studien geklärt werden.

4.2 Haben individuelle Faktoren (Alter, Hauttyp, Geschlecht, BMI und dermatologische Grunderkrankung) einen Einfluss auf die Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration?

Aufgrund der hohen Prävalenz und den gravierenden gesundheitlichen Auswirkungen eines Vitamin D-Mangels ist die Frage, welche Faktoren den 25(OH)D₃-Serumspiegel beeinflussen, von großer

wissenschaftlicher Bedeutung. Im folgenden Kapitel werden die individuellen, physiologischen Faktoren, welche den 25(OH)D₃-Serumspiegel beeinflussen, genauer beleuchtet und interpretiert.

In der Literatur ist beschrieben, dass aufgrund des sinkenden 7-DHC-Gehaltes der Haut, die 25(OH)D₃-Serumspiegel im Alter deutlich abnehmen (Holick et al., 1980, Maclaughlin et al., 1985, Matsuoka et al., 1988). 7-DHC wird in der Leber gebildet und ist die Vorstufe von Prävitamin D und Vitamin D in der Haut. Sinkt der 7-DHC-Gehalt der Haut ab, ist der Körper unfähig ausreichend Vitamin D zu synthetisieren. Ob der im Alter verminderte 7-DHC-Gehalt der Haut auf eine verminderte Syntheseleistung der Leber oder einer reduzierten Speicherfähigkeit der Haut beruht, ist nicht sicher belegt. Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchung belegen eine leichte Abnahme der 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen mit zunehmendem Patientenalter. Bei fehlender Signifikanz ($p = 0,823$, $r = -0,36$) ergab sich ein diskreter Trend, dass der Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel mit zunehmendem Alter absinkt. Folglich zeigen unsere Daten identische Ergebnisse wie die bereits publizierten Arbeiten.

Die Pigmentierung sowie der Melaningehalt der Haut stellen einen weiteren Einflussfaktor auf den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel dar. Melanin wird in den Melanozyten der epidermalen Basalzellschicht gebildet. Nach UV-Strahlung wird es in das umliegende Hautgewebe abgegeben und verhindert dort die Vitamin D-Synthese indem es UVB-Licht absorbiert. Studien belegen, dass helle Hauttypen höhere 25(OH)D₃-Serumspiegel aufweisen und weitaus seltener unter Vitamin D-Mangel leiden als dunkle Hauttypen in gleichen Breitengraden (Clemens et al., 1982, Hagenau et al., 2009). In Deutschland wurde beschrieben, dass Personen mit Migrationshintergrund, insbesondere im Winter, deutlich reduzierte 25(OH)D₃-Serumspiegel haben (Hintzpeter et al., 2008b). Eine aktuelle Studie zeigte hingegen keine relevanten Unterschiede in den Baseline-25(OH)D₃-Serumwerten sowie im Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel nach UVB-Therapie, zwischen hellen und dunklen Hauttypen (Bogh et al., 2010). Die gewonnenen Daten ergaben leicht erhöhte Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel (Median 14,3ng/ml) in hellen Hauttypen im Vergleich zum Misch-Typ (Median 11,15 ng/ml) oder dunklen Hauttypen (Median 10,3 ng/ml), obgleich das Signifikanzlevel von $p = 0,05$ nicht erreicht wurde ($p = 0,424$). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind somit in Einklang mit früheren Untersuchungsergebnissen, welche höhere 25(OH)D₃-Serumspiegel in hellen Hauttypen verglichen mit dunklen Hauttypen fanden (Clemens et al., 1982, Hagenau et al., 2009). Eine mögliche Limitation der Arbeit soll an dieser Stelle Erwähnung finden. Die Gruppierung der Hauttypen erfolgte anhand der Patientenfragebögen, jeweils nach der vom Patienten angegebenen Hautreaktion auf Sonneneinstrahlung, Haar- und Augenfarbe. Eine Messung der Haut-Pigmentierung fand nicht statt, wodurch eine fehlerhafte Einordnung der Hauttypen nicht vollkommen auszuschließen ist.

Geschlechtsspezifische Unterschiede im Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel wurden ebenfalls untersucht. In einer veröffentlichten Studie zeigten Frauen (56 nmol/L) eine grenzwertig höhere Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen als Männer (50 nmol/L), ($p = 0,05$) (Hagenau et al., 2009). In zwei weiteren Studien wiesen ebenfalls die Frauen höhere 25(OH)D₃-Serumspiegel als Männer auf (Lagunova et al., 2009, Johnson et al., 2012). In einer Studie aus Australien zeigten hingegen Männer (82 nmol/L) höhere 25(OH)D₃-Serumspiegel als Frauen (70,6 nmol/L, $p = 0,0001$) (Nair et al., 2013). Unter UVB-Therapie konnte ein stärkerer 25(OH)D₃-Anstieg bei Männern verzeichnet werden ($p = 0,01$) (Bogh et al., 2010). Folglich zeigte die Studienlage keine einheitlichen geschlechtsspezifischen Unterschiede. Pathophysiologisch existieren hierfür zwei kontroverse Erklärungsmodelle, die sich auf den erhöhten Körperfettanteil der Frauen beziehen: a.) Frauen speichern 25(OH)D₃ im Fettgewebe, wodurch weniger freies 25(OH)D₃ im Serum nachweisbar ist; b.) im Gegensatz dazu kann vermutet werden, dass Frauen aufgrund des höheren Körperfettanteils mehr Vitamin D bilden, da ein erhöhtes Angebot von Vitamin D-Vorläufermolekülen vorherrscht (Vitamin D-Metabolite sind Cholesterinderivate). Innerhalb der durchgeführten Studie zeigten sich nahezu identische Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel, wobei Frauen mit 10,5 ng/ml leicht höhere Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel als Männer (8,9 ng/ml) aufwiesen. Nach der statistischen Auswertung erreichten die Unterschiede das Signifikanzniveau nicht ($p = 0,699$).

Die Mehrheit der Studien postuliert eine negative Korrelation zwischen 25(OH)D₃-Serumspiegel und BMI (Lagunova et al., 2009, Tamer et al., 2012). In einer aktuellen Studie aus Deutschland wurde publiziert, dass insbesondere Menschen mit sehr hohen ($> 30 \text{ kg/m}^2$) oder niedrigen BMI-Werten ($< 20 \text{ kg/m}^2$) von einem Vitamin D-Mangel betroffen sind (Hintzpeter et al., 2008a). In der vorgelegten Studie konnte keine Korrelation zwischen BMI und dem Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel verzeichnet werden. Bei den untersuchten Patienten ($n = 50$) zeigten sich mit zunehmendem BMI leicht ansteigende Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel, wenn auch der Anstieg keine Signifikanz aufwies ($p = 0,109$). Insgesamt erwies sich das untersuchte Kollektiv bei einem medianen BMI von $25,15 \text{ kg/m}^2$ als prä-adipös und deutlich Vitamin D-defizient (mediane Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel nUVB Gruppe: 11,4 ng/ml, PUVA-Gruppe: 10 ng/ml). Folglich konnten die in der Literatur publizierten Assoziationen zwischen Adipositas und Vitamin D-Defiziten durch die vorgelegten Untersuchungsergebnisse bestärkt werden.

Weiterhin wurde analysiert, ob die dermatologische Grunderkrankung mit den Vitamin D-Serumspiegeln in Zusammenhang steht. Die Daten ergaben bei Patienten mit Psoriasis (8,6 ng/ml) geringere Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel, als bei Patienten mit Neurodermitis (13,3 ng/ml) oder anderen dermatologischen Erkrankungen (11,4 ng/ml). Ein signifikanter Unterschied war jedoch nicht

erkennbar ($p = 0,163$). Insgesamt wiesen nahezu alle Patienten insuffiziente 25(OH)D₃-Serumspiegel auf. Höhere Vitamin D-Mangel-Prävalenzen unter Psoriasis (89 %) und Neurodermitis-Patienten (94 %) im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe (53 %) konnte bereits in einer anderen Arbeit bestätigt werden (Vahavihu et al., 2010). Folglich leiden Patienten mit Hauterkrankungen besonders häufig unter einem Vitamin D-Mangel. Die Ursachen dieser erhöhten Vitamin D-Mangel-Prävalenz, sind bisher noch nicht vollständig geklärt.

Abschließend unterstützen die Resultate der vorgelegten Studie die Annahme, dass insbesondere ältere und adipöse Menschen, dunkelhäutige Personen sowie Patienten mit dermatologischen Erkrankungen (Psoriasis, Neurodermitis) besonders häufig von einem Vitamin D-Mangel betroffen sind.

4.3 Haben persönliche Verhaltensweisen (Solarium-Besuche, Sonnencreme-Gebrauch und Ernährung) einen Einfluss auf die Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration?

UV-Röhren in Solarien und Sonnenstudios emittieren überwiegend UVA-Licht und zu einem geringen Anteil UVB-Strahlung. Eine Studie zeigte, dass UVA-Sonnenbänke (UVB-Anteil von 0,5 %) nach vier Dosen a sechs Minuten einen Anstieg des 25(OH)D₃-Serumspiegels (um 12 nmol/l) bewirkten (Thieden et al., 2008). Folglich würden regelmäßige Solarium-Besuche neben der gewünschten Hautpigmentierung zu einem Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration führen. Im Fragebogen gaben die untersuchten Patienten Auskunft über die Häufigkeit von Solarium-Besuchen. Erwartungsgemäß zeigte sich, dass der Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel bei regelmäßigen Sonnenbank-Besuchen höher ausfiel (24,45 ng/ml), als bei Patienten, die nie (10,9 ng/ml) ein Sonnenstudio aufsuchten ($p = 0,166$). Von dieser Tatsache ausgehend, wären Sonnenbänke eine denkbare Möglichkeit den 25(OH)D₃-Serumspiegel zu erhöhen. Die hohe UVA-Strahlungsdosis und die daraus resultierende vorzeitige Hautalterung sprechen jedoch gegen eine allgemeine Empfehlung, den Vitamin D-Serumspiegel mittels Sonnenbankbesuchen zu optimieren.

Laut Studienlage reduziert bereits LSF 8 die Vitamin D₃-Produktion in der Haut um bis zu 95 % (Clemens et al., 1982). Patienten, die im Fragebogen angaben regelmässig Sonnencreme zu verwenden, zeigten höhere Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen (Median 16,8 ng/ml) verglichen mit Patienten die nie einen Sonnenschutz verwendeten (Median 6,2 ng/ml) ($p = 0,052$). Möglicherweise sind Personen, die oft einen Sonnenschutz verwenden regelmäßig einer intensiven Sonnenstrahlung ausgesetzt. Dies wäre eine mögliche Erklärung der Studienergebnisse. Denkbar wäre auch, dass Patienten die regelmäßig Sonnencreme verwendeten, diese nicht mindestens 30 min vor dem Sonnenbad auftrugen, oder eine zu geringe Auftragsmenge verwendeten ($< 2 \text{ mg/cm}$), sodass die Vitamin D-Synthese während des Sonnenbades nicht vollständig inhibiert wurde (Faurschou et al., 2012).

Der regelmäßige Verzehr von fettigem Seefisch steigert den 25(OH)D₃-Serumspiegel, dies konnte durch mehrere Studien nachgewiesen werden (Nakamura et al., 2000, Wu et al., 2012). Im untersuchten Patientenkollektiv gaben zwei von 29 Patienten an, regelmäßig mindestens einmal pro Woche Fisch zu essen. Diese beiden Patienten wiesen insgesamt geringere mediane Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel auf, als Patienten, die seltener oder nie Fisch aßen, wobei der Unterschied mit $p = 0,160$ nicht signifikant war. Unabhängig vom Fischverzehr zeigten nahezu alle Patienten, die in die Untersuchung einbezogen wurden, Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen von < 20 ng/ml. Daraus lässt sich ableiten, dass sowohl die dermale Synthese als auch die orale Zufuhr an Vitamin D durch die Nahrung, insbesondere in unseren Breitengraden, zu gering ist um adäquate 25(OH)D₃ zu erreichen. Diese Annahme wird unterstützt durch die Stellungnahme der DGE, wonach 82 % der Männer und 91 % der Frauen die derzeitig empfohlene, tägliche Zufuhrmenge von Vitamin D nicht erreichen. Bei über 65-Jährigen liegt dieser Anteil bei 94 % bzw. 97 % (J Linseisen et al., 2011). Folglich sollten, insbesondere im Winter, mehr Vitamin D-haltige Nahrungsmittel verzehrt oder eine orale Substitution in Erwägung gezogen werden.

4.4 Determinieren SNP im Vitamin D-System die Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration?

In der Literatur sind bisher mehrere Polymorphismen im Vitamin D-Systems beschrieben, welche nachweislich den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel und die Serumkonzentration des VDBP bestimmen (Kurylowicz et al., 2006, Abbas et al., 2008, Engelman et al., 2008, Ahn et al., 2009, Fang et al., 2009, Fu et al., 2009, Sinotte et al., 2009). In der vorgelegten Studie wurden von insgesamt 52 Patienten die Genotypen von fünf SNP im VDR, vier im VDBP sowie ein SNP im Gen der 25-Hydroxylase (CYP2R1) analysiert und mit den Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen verglichen. Hierbei zeigten die Genotypen von drei SNP im VDBP einen signifikanten Einfluss auf den 25(OH)D₃-Serumspiegel. Dazu gehörten rs4588 ($p = 0,028$), rs1155563 ($p = 0,040$) und rs2282679 ($p = 0,049$).

Laut Literatur weist der homozygote Genotyp-A/A im SNP rs4588 die niedrigsten Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen auf, der C/C-Genotyp die höchsten (Sinotte et al., 2009). Auch in unserer Studie wies der homozygote C/C-Haplotyp mit 12,3 ng/ml die höchsten Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen auf, gefolgt vom heterozygoten C/A-Genotyp mit 9,9 ng/ml. Lediglich ein Patient war Träger des A/A-Genotyps, und wies eine mediane Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze von 4 ng/ml auf ($p = 0,028$).

Für den SNP rs1155563 wurde beschrieben, Allel C sei mit erniedrigten Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen vergesellschaftet (Lu et al., 2012). Die Resultate der Genotypisierungen spiegeln auch dies wieder. Der C/C-Genotyp konnte im Patientenkollektiv nicht nachgewiesen werden, dennoch zeigte der heterozygote C/T-Genotyp mit 6,4 ng/ml eine deutlich niedrigere mediane

Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration als der homozygote T/T-Genotyp (11,5 ng/ml). Der p-Wert zwischen den Genotypen betrug 0,040.

Verminderte Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration wurden ebenfalls für den homozygoten C/C-Genotyp im SNP rs2282679 publiziert (Ahn et al., 2009, Signorello et al., 2011, Lu et al., 2012). Diese Aussage konnte bestätigt werden (p = 0,049). Innerhalb der Patientengruppe wies ein Patient den C/C-Genotyp auf, sein Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration lag unterhalb der Nachweisgrenze. Die Patienten mit heterozygoten C/A-Genotypen zeigten mit 10,6 ng/ml mittlere, während die homozygoten A/A-Genotypen die höchsten Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen aufwiesen (11,5 ng/ml).

Zwei weitere SNP, die in der Literatur mit verminderten 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen in Verbindung gebracht werden, rs7041 und rs2060793 (Ahn et al., 2010, Lu et al., 2012), zeigten in der aktuellen Studie keinen signifikanten Einfluss auf den Baseline 25(OH)D₃-Serumspiegel.

Trotz der geringen Fallzahl ließen sich die Ergebnisse anderer Studien reproduzieren. SNP im VDBP zeigten Einflüsse auf den Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel, SNP im VDR oder CYP2R1 hingegen nicht. Diese Ergebnisse unterstreichen die essentielle Bedeutung des VDBP im Vitamin D-Metabolismus. Die pathophysiologische Bedeutung der erniedrigten Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen in risikobehafteten VDBP-Genotypen wird zentraler Forschungsschwerpunkt weiterführender Studien sein. Von fundamentaler, klinischer Bedeutung ist dabei die Frage, ob die Genotyp-abhängigen, erniedrigten Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen mit Vitamin D-Mangelercheinungen/Erkrankungen vergesellschaftet sind, oder ob die verminderten 25(OH)D₃-Serumspiegel anderweitig kompensiert werden, z.B. durch einen erhöhten Metabolismus. Für den zu Vitamin D-Mangel, prädisponierenden VDBP-Genotyp A/A im rs4588 konnte bereits ein erhöhtes Frakturrisiko ausgeschlossen werden (Lauridsen et al., 2004). Eine denkbare Ursache wäre die Unfähigkeit des A/A-Genotypes als Gc-MAF zu agieren, wodurch aufgrund verminderter Osteoklasten-Aktivierung das Frakturrisiko gesenkt würde. Dies zeigt beispielhaft welch großes Potential aber auch Forschungsbedarf besteht, um die Zusammenhänge und Funktionen des multimodalen VDBP genauer zu analysieren.

4.5 Wie verhält sich der 25(OH)D₃-Serumspiegel unter nUVB- und PUVA-Therapie?

In der Literatur ist ein Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen durch Sonnenlicht und bUVB-Therapie (280 – 320 nm) gut belegt (Osmancevic et al., 2007, Bogh et al., 2012). Über einen Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen unter nUVB (311 nm) gibt es jedoch wesentlich weniger Studien. Weiterhin beschreiben einige Autoren eine UVA-bedingte Degeneration von 25(OH)D₃ (Godar et al., 2009, Langdahl et al., 2012). Um den Einfluss einer UV-Therapie auf den 25(OH)D₃-

Serumspiegel zu untersuchen, wurden vor Beginn der UV-Behandlung, sowie nach einer und zwei Wochen UV-Therapie die 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen bestimmt. Die Veränderungen im 25(OH)D₃-Serumspiegel nach nUVB und PUVA-Therapie wurden analysiert und miteinander verglichen.

Unter nUVB-Therapie war ein Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel zu verzeichnen. Nach einer Woche nUVB-Therapie betrug der 25(OH)D₃-Anstieg vom Baselinewert 2,1 ng/ml (von 11,4 auf 13,5 ng/ml, $p = 0,116$). In der zweiten Woche stieg die mediane 25(OH)D₃-Serumkonzentration um 6,65 ng/ml von 13,5 ng/ml auf 20,15 ng/ml an. Insgesamt zeigte sich nach zwei Wochen nUVB-Therapie ein signifikanter Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration vom Baselinewert um 8,75 ng/ml (von 11,4 auf 20,15 ng/ml, $p < 0,001$). Der 25(OH)D₃-Anstieg pro Joule erfolgte zeitlich verzögert. In der ersten Woche nUVB-Therapie betrug der 25(OH)D₃-Anstieg 2,3 ng/J (2,1 ng/ml / 0,9 J/cm²) in der zweiten Woche 6,65 ng/J (6,65 ng/ml / 1,0 J/cm²). Dieser verzögerte 25(OH)D₃-Anstieg lässt sich physiologisch erklären. Im Anschluss an die kutane Vitamin D-Synthese, wird Vitamin D ins Blut abgegeben und im Fettgewebe angereichert. Erst nachdem dort die Vitamin D-Speicher gesättigt sind, steigt der Vitamin D-Serumspiegel an, sodass 25(OH)D₃ in Leber synthetisiert und im Serum nachgewiesen werden kann.

Unter PUVA-Bestrahlung zeigte der 25(OH)D₃-Serumspiegel keine wesentlichen Veränderungen. Einige Autoren beschreiben ein Absinken der 25(OH)D₃-Serumkonzentration durch UVA-Licht (Godar et al., 2009, Langdahl et al., 2012). Insgesamt wurde die Untersuchung mit 22 Patienten (nach 1 Woche) und 11 Patienten (nach 2 Wochen) PUVA-Therapie an einer sehr kleinen Population untersucht. Dabei zeigten die Laborergebnisse eine diskrete, nicht signifikante Reduktion der 25(OH)D₃-Serumkonzentration um 0,5 ng/ml nach 1 Woche PUVA-Therapie. Nach 2 Wochen und einer Gesamt-UVA-Dosis von 6,0 J/cm² war die 25(OH)D₃-Serumkonzentration nahezu identisch zum Ausgangswert (+ 0,1 ng/ml). Anhand dieser Resultate lässt sich ein Absinken der 25(OH)D₃-Serumspiegel durch UVA-Licht nicht bestätigen.

4.6 Beeinflusst die Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration den Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel?

Im Verlauf der Untersuchung zeigte sich, dass bei Patienten mit niedrigen Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen, im Verlauf der UV-Behandlung ein sehr starker Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel zu beobachten war. Patienten mit initial hohen Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen wiesen einen geringeren 25(OH)D₃-Anstieg auf. Dieser Effekt war nach einer Woche nUVB-Therapie weniger stark ausgeprägt ($p = 0,084$; $r = -0,396$), nach zwei Wochen hingegen besonders deutlich ($p = 0,001$; $r = -0,835$). In der Auswertung ergab sich eine signifikant negative

Korrelation zwischen Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel und dem Anstieg (Δ) der 25(OH)D₃-Serumspiegel unter nUVB-Therapie. Dieses Phänomen wurde bereits in einer Studie von Bogh (Bogh et al., 2010) mit bUVB beschrieben und konnte folglich für nUVB bestätigt werden.

Schlussfolgern lässt sich aus diesen Daten, dass gerade Personen mit sehr niedrigen 25(OH)D₃-Serumspiegeln von einer UV-Therapie profitieren. Trotz der positiven Einflüsse auf den Vitamin D-Spiegel, stellt UV-Strahlung stets ein karzinogenes Risiko dar. Ob der Zusammenhang zwischen den Baseline-Werten und dem Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel bei oraler Vitamin D-Supplementation ebenfalls zu verzeichnen ist, muss in nachfolgenden Studien geklärt werden

4.7 Zeigt die nUVB-Therapie einen positiven Einfluss auf ausgewählte Laborparameter (CRP, HbA_{1c}, Cholesterin, HDL, LDL) oder Blutdruckwerte?

Bisher existieren mehrere Studien die belegen, dass sich mit steigenden 25(OH)D₃-Serumspiegel durch UVB- und Solar-Therapie, sowohl die Blutdruckwerte als auch Laborparameter wie Blutzucker-Entzündungs- und Cholesterinwerte positiv verändern (Krause et al., 1998, Osmancevic et al., 2009). Osmancevic et al. untersuchten die Blutzucker- und Cholesterinwerte von Psoriasis-Patienten, die 15 Tage lang in Gran Canaria eine UV-Therapie erhielten. Ein Absinken des mittleren LDL/HDL Index von 2,4 auf 1,9 sowie eine Reduktion des HbA_{1c} von 5,6 % auf 5,1 % konnte dabei beobachtet werden. In der Studie von Krause et al. (1998) wurde eine Reduktion des systolischen und diastolischen Blutdruck um 6 mmHg, durch eine sechs-wöchige bUVB-Bestrahlung beschrieben, während dieser Effekt durch alleinige UVA-Behandlung nicht nachgewiesen werden konnte. Ebenso wurde eine negative Korrelation zwischen 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen und CRP in mehreren Arbeiten beschrieben (Amer et al., 2012, Eleftheriadis et al., 2012). Ziel der vorgelegten Studie war es nachzuweisen, ob durch nUVB-Bestrahlung (311 nm) ebenfalls Veränderungen der oben aufgeführten Parameter zu erreichen sind. Hierfür wurde innerhalb der Patientenpopulation, in wöchentlichen Abständen der Blutdruck gemessen, des Weiteren wurden der 25(OH)D₃-Serumspiegel, CRP, HbA_{1c}, Cholesterin, Triglyceride HDL und LDL bestimmt.

Die Resultate im zeitlichen Verlauf der nUVB-Therapie ergaben einen signifikanten Anstieg der LDL Cholesterinwerte zwischen der Messung nach einer und zwei Wochen ($p = 0,023$). Folglich zeigt auch der LDL/HDL-Index einen Anstieg von 2,13 vor Beginn der UV-Therapie auf 2,2 nach zwei Wochen nUVB-Therapie ($p = 0,03$). Patienten die eine UVA-Therapie erhielten, zeigten dieses Phänomen nicht. In der UVA-Gruppe war hingegen ein signifikantes Absinken der systolischen Blutdruckwerte von 145 mmHg zu Beginn der Therapie auf 128 mmHg nach zwei Wochen zu verzeichnen. Nachdem die gemessenen Parameter der nUVB- und PUVA-Gruppe statistisch miteinander verglichen wurden, zeigte sich zu keinem der Messzeitpunkte ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit nUVB-Therapie und PUVA-Kontrollgruppe.

In der untersuchten Patientenpopulation ist keine Korrelation zwischen Blutdruck-, Blutzucker-, Entzündungs- und Cholesterinwerten, mit dem nUVB-induziertem Anstieg, der 25(OH)D₃-Serumspiegel nachzuweisen. Die Ergebnisse konnten somit die publizierten Ergebnisse der oben aufgeführten Arbeiten von Osmanovic und Krause nicht bestätigen. Die Blutentnahmen wurden in der Mehrzahl der Fälle morgens durchgeführt. Es ließ sich organisatorisch nicht bewerkstelligen, nüchtern-Blutentnahmen zu gewährleisten. Folglich sind die gemessenen Blutfette nur bedingt zu verwenden, und der signifikante Anstieg der LDL-Serumkonzentration sowie des LDL/HDL-Index nach nUVB-Behandlung sehr kritisch zu beurteilen und zu hinterfragen. Weiterhin ist zu diskutieren, ob eine Veränderung der HbA_{1c}-Werte bereits nach einer Woche oder zwei Wochen zu erwarten ist, da HbA_{1c} im klinischen Alltag als Langzeitwert verwendet wird und Aufschluss über die Blutzuckerwerte der zurückliegenden 2 - 3 Monate gibt. An dieser Stelle sei zu erwähnen, dass die von den o.a. Arbeitsgruppen beschriebenen positiven Vitamin D-Effekte mittels bUVB (280 – 320 nm)- bzw. Solartherapie erzielt wurden. Diese Spektren beinhalten sowohl den Peak der optimalen Vitamin D-Synthese welcher bei 298 nm liegt, als auch ein hohes erythemales Potential. Das in der vorliegenden Studie applizierte nUVB-Spektrum mit einer Wellenlänge von 310 – 315 nm (max. bei 311 nm) ist aufgrund der geringeren erythemalen Wirkungen deutlich verträglicher, liegt jedoch mit seiner größeren Wellenlänge etwas außerhalb des optimalen Vitamin D-Synthese-Spektrums. Folglich sind die Ergebnisse der aktuellen Studie mit den Resultaten der o.g. Studien nur bedingt vergleichbar. Die vorliegenden Daten bestätigen jedoch, dass die nUVB-Therapie eine Vitamin D-Synthese zu induzieren vermag. Möglicherweise ist jedoch die Intensität bzw. Quantität des nUVB im Vergleich zum bUVB zu gering, um die beschriebenen Effekte auf o.g. Laborparameter und Blutdruckwerte zu erzielen.

4.8 Besteht innerhalb des Patientenkollektivs ein Zusammenhang zwischen niedrigen Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen und Vitamin D-Mangel-Erkrankungen?

Anhand des Patientenfragebogens wurde die Prävalenz unterschiedlicher Erkrankungen (Malignomen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Diabetes und Fraktur-Risiko) in Zusammenhang mit dem 25(OH)D₃-Serumspiegel untersucht. Nur eine geringe Anzahl der Patienten litt unter Herz-Kreislauf-Erkrankungen (n = 3), Diabetes (n = 5) oder Malignomen (n = 1). Folglich musste auf eine statistische Auswertung dieser Erkrankungen verzichtet werden. Zum Frakturrisiko ließ sich eine deskriptive Statistik anfertigen.

Die Daten ergaben, dass Patienten welche eine osteoporotische Fraktur (Wirbelkörper, Schenkelhals proximaler Humerus, distaler Radius) in der Historie angaben, deutlich reduzierte 25(OH)-Serumkonzentrationen (6,0 ng/ml) aufwiesen. Bei Patienten die noch nie bzw. eine anderweitige Fraktur erlitten hatten lag dieser Wert höher (13,3 ng/ml). Die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant (p = 0,209). Vitamin D ist maßgeblich am Knochen- und Kalziumstoffwechsel beteiligt.

Verminderte 25(OH)D₃-Serumspiegel führen über die ansteigende Parathormon-Konzentration zum Abbau der Knochenmatrix (Dusso et al., 2005, Holick, 2007a, Bikle, 2009). Bereits bei jungen Mädchen ist einen Zusammenhang von niedrigen 25(OH)D₃-Serumspiegeln und verminderter Knochendichte beschrieben worden (Cheng et al., 2003). Die gewonnenen Resultate entsprechen den Angaben der Literatur, welche besagen, dass mit sinkendem 25(OH)D₃-Serumspiegeln das Frakturrisiko steigt.

4.9 Zeigen die untersuchter Polymorphismen (VDR, VDBP, CYP2R1) Unterschiede in der Genotypen-Prävalenz zwischen dermatologischen Patienten und der Kontrollgruppe?

Nachdem bereits einige Genotypen der SNP im VDBP signifikante Unterschiede in den Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen aufwiesen, wurde abschließend untersucht ob ein möglicher Zusammenhang zwischen den SNP-Genotypen und den dermatologischen Erkrankungen besteht.

Hierfür wurden 52 Patientenproben, sowie 192 weibliche und 192 männliche Kontrollpersonen genotypisiert. Anschließend wurden die Genotyp-Prävalenzen aller dermatologischen Erkrankungen summiert und im Chi-Quadrat-Test mit den Prävalenzwerten der gesunden Kontrollgruppe verglichen. Bei einigen SNP zeigten die dermatologischen Patienten eine signifikante Varianz der Genotyp-Prävalenzen verglichen mit der Kontrollgruppe. Ein signifikanter Unterschied bestand bei vier SNP's innerhalb des VDR in rs7975232 ($p = 0,000$), rs731236 ($p = 0,003$), rs2107301($p = 0,004$) und rs11574143 ($p = 0,003$).

Anschließend wurde die Genotypen-Verteilung der jeweiligen Diagnosen (Psoriasis, Neurodermitis und andere Hauterkrankungen) einzeln gruppiert und gemeinsam mit den Genotypen der Kontrollgruppe im Chi-Quadrat Test verglichen. Dabei zeigten, sowohl die bereits beschriebenen vier SNP im VDR rs7975232 ($p = 0,006$), rs731236 ($p = 0,010$), rs2107301($p = 0,010$) und rs11574143 ($p = 0,010$), als auch zwei SNP im VDBP rs4588 ($p = 0,005$), rs2282679 ($p = 0,006$) signifikante Unterschiede zwischen den Genotyp-Prävalenzen der dermatologischen Diagnosen- und der Kontrollgruppe.

Aufgrund der geringen Fallzahl mit z. T. nur einem Patienten je Genotyp wäre die Teststärke vieler weiterführender Test zu gering. Weshalb an dieser Stelle auf eine explizite Diskriminierung der Daten verzichtet wurde. Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass die Genotypen-Verteilung der untersuchten SNP bei Patienten dermatologischer Erkrankung im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe signifikant anders ist.

Inzwischen gibt es Untersuchungen die sich mit SNP im Vitamin D-System und malignen Erkrankungen beschäftigen (Kostner et al., 2009). Wenige Studien haben SNP im Vitamin D-System bei chronisch, dermatologischen Erkrankungen wie Psoriasis und Neurodermitis analysiert. Bei pubmed ist bisher lediglich eine Studie gelistet die VDR-Polymorphismen bei Neurodermitis-Patienten untersuchte. In dieser wird dem C-Allel im SNP rs7975232 und dem T-Allel im SNP

rs731236 eine erhöhte Prävalenz bei Neurodermitis im Vergleich zur Kontrollgruppe zugeschrieben. Für VDR Polymorphismen bei Psoriasis gibt es inzwischen wenige Studien, aus Japan, Kroatien, Ägypten und Türkei, jedoch keine für die kaukasische Bevölkerung (Park et al., 1999, Okita et al., 2002, Dayangac-Erden et al., 2007, Zuel-Fakkar et al., 2011, Rucevic et al., 2012). Die Meinungen innerhalb dieser Arbeiten variieren stark, da die Untersuchungen an unterschiedlichen Populationen und ethnischen Rassen durchgeführt wurden. Park et al. (1999) beschrieben z. B. eine höhere Prävalenzrate des A-Allel im SNP rs7975232 während Dayangac-Erden et al. (2007) eine höhere Prävalenz des T-Allels im rs731236 publizierten. Rucevic et al. (2012), Zuel-Fakkar et al. (2011) und Okita et al. (2002) hingegen fanden keine Assoziation zwischen Psoriasis und VDR-Polymorphismen (rs7975232, rs731236).

Die Ergebnisse lassen annehmen, dass es einen Zusammenhang zwischen dermatologischen Erkrankungen und den SNP im VDR und VDBP gibt. In Anbetracht der geringen Fallzahl ist diese Aussage jedoch unter Vorbehalt zu formulieren. Um diese Hypothese zu bestätigen, müssten weitaus mehr Genotypisierungen an Patienten durchgeführt werden, um die Reliabilität der Untersuchung zu verbessern. Falls Untersuchungen an größeren Populationen weiterhin signifikante Resultate aufzeigen, wäre die Frage nach der Funktion von Polymorphismen, im Rahmen der Pathophysiologie dermalen Erkrankungen von relevanter Bedeutung.

4.10 Zusammenfassung und Interpretation der wichtigsten Ergebnisse

Die Ergebnisse der vorgelegten Studie bestätigen die hohe Prävalenz des Vitamin D-Mangels in der deutschen Bevölkerung. Unsere Resultate sind somit im Einklang mit den von Hintzpeter et al. publizierten Daten, die bei etwa 60 % der ganzjährig in Deutschland untersuchten Männer und Frauen 25(OH)D₃ Serumspiegel < 20 ng/ml fanden (Hintzpeter et al., 2008a). Von den im Winter untersuchten, dermatologischen Patienten unserer Studie wiesen 85 % einen Baseline-25(OH)-Serumspiegel < 20 ng/ml auf. Dies lässt vermuten dass die Vitamin D-Mangel-Prävalenz unter dermatologischen Patienten noch deutlich ausgeprägter ist, als in der gesamtdeutschen Bevölkerung.

In der durchgeführten Untersuchung zeigten sich höhere Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentrationen bei a.) Patienten mit hellem Hauttyp, verglichen mit dunkelhäutigen Patienten; b.) Patienten mit hohem, verglichen mit niedrigem BMI; c.) jüngeren Patienten, verglichen mit älteren Patienten; d.) Patienten, die in der Vergangenheit über häufige Solarium-Besuche berichteten, im Vergleich zu Patienten die keine Solarium-Besuche angaben; e.) Patienten, die regelmäßig Sonnenschutzcremes verwendeten, versus Patienten die eine regelmäßige Anwendung von Sonnencremes verneinten. Es zeigte sich für alle Unterschiede der Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration, welche mit diesen untersuchten Covariablen assoziiert waren ein Trend, ohne das Signifikanzniveau von $p = < 0,05$ zu

erreichen. Auch zwischen den einzelnen Patientengruppen (Neurodermitis vs. Psoriasis) fanden sich keine signifikanten Unterschiede der Baseline-25(OH)D₃-Serumkonzentration.

Nach zwei Wochen nUVB Therapie (mittlere, kumulative nUVB-Dosis 1,9 J/cm²) war bei den Probanden ein signifikanter Anstieg der 25(OH)D₃-Serumspiegel (um 8,75 ng/ml) von 11,4 ng/ml auf 20,15 ng/ml ($p = < 0,001$) zu beobachten. In der ersten Woche ergab sich ein mittlerer Anstieg der 25(OH)D₃-Serumkonzentration von 2,3 ng/J nUVB, in der zweiten Woche ein mittlerer Anstieg von 6,65 ng/J nUVB. Probanden mit niedrigen Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegeln zeigten einen stärkeren Anstieg der 25(OH)D₃-Konzentration im Serum verglichen mit Patienten, die bereits hohe Baseline-25(OH)-Serumspiegel aufwiesen ($p = 0,001$, $r = -0,835$). Diese Ergebnisse belegen, dass neben der nUVB-Dosis weitere Faktoren den 25(OH)D₃-Anstieg maßgeblich beeinflussen.

PUVA-Therapie führte zu keinen nennenswerten Veränderungen des 25(OH)D₃-Serumspiegel, was gegen die Hypothese eines relevanten UVA-bedingten Abbaus von Vitamin D-Metaboliten spricht.

Von zehn, in Genen des Vitamin D Stoffwechsels untersuchten Einzel-Nukleotid-Polymorphismen (SNP), waren drei der SNP im VDBP-Gen (rs4588, rs 1155563 und rs2282679) mit signifikanten Unterschieden im Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel assoziiert ($p = < 0,05$), was die bisher publizierten Daten bestätigt. Durch die vorgelegte Studie wurden erstmalig SNP in Genen des Vitamin D-Systems auf eine Assoziation zu dermatologischen Erkrankungen, innerhalb der kaukasischen Bevölkerung untersucht. Hierbei waren in vier SNP des VDR, sowie in drei SNP des VDBP signifikant unterschiedliche Prävalenzwerte zwischen dem dermatologischen Patientenkollektiv und der gesunden Kontrollgruppe (ca. 400 Probanden) zu verzeichnen.

Untersuchungen über die möglichen Auswirkungen der UV-Therapie auf ausgewählte klinische und laborchemische Parameter (Blutdruck, CRP, HbA_{1c}, HDL/LDL Cholesterin, gesamt Cholesterin, Triglyceride) ergaben signifikant ($p = < 0,05$) a.: verminderte systolische Blutdruckwerte nach 2 Wochen PUVA-Therapie (mit 128 mmHg) verglichen mit dem Ausgangswert (145 mmHg) sowie b.: erhöhte LDL/HDL Index nach zwei Wochen UVB-Therapie (2,2) verglichen mit dem Ausgangswert (2,13). Ein direkter Vergleich beider UV-Therapien ergab keine signifikant unterschiedlichen Auswirkungen auf die analysierten Parameter.

Zusammengefasst konnten in den Untersuchungen zahlreiche Faktoren näher charakterisiert werden, die den 25(OH)D₃-Serumspiegel beeinflussen. Hierzu gehören neben bestimmten Verhaltensweisen (u.a. Solarium-Besuche, Anwendung von Sonnenschutzmitteln), individuelle Variablen (BMI, Alter, Hauttyp, Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel) sowie ausgewählte genetische Faktoren (SNP im VDR,

VDBP und CYP2R1). Zwischen den einzelnen Patientengruppen (Psoriasis, Neurodermitis und anderen dermatologischen Erkrankungen) wurden keine nennenswerten Unterschiede der Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegel festgestellt. Auch konnten keine nennenswerten Auswirkungen der beiden UV-Therapien (nUVB vs PUVA) auf ausgewählte Gesundheitsparameter verzeichnet werden. Die Analyse der Genotypen-Prävalenz zwischen Patienten- und Kontrollgruppe lässt vermuten, dass eine Assoziation zwischen Hauterkrankungen und SNP in Genen des Vitamin D-Systems existiert.

Mit den durchgeführten Untersuchungen konnte der Einfluss vieler Faktoren auf den Vitamin D-Status vor und nach UVB-Therapie genauer analysiert werden. Aufgrund methodischer Limitationen (u.a. geringe Fallzahl) war es letztlich nicht möglich, alle Fragen dieser Arbeit vollständig zu beantworten. Hierfür sind dringend randomisierte, prospektive, klinische Multicenterstudien erforderlich, um den Einfluss der verschiedenen UV-Therapiesysteme auf den Vitamin D-Stoffwechsel und ausgewählte klinische und laborchemische Parameter abschließend einzuschätzen.

4.11 Limitationen der Studie

Die Limitation der Studie lag maßgeblich in der Fallzahl der Probanden. Viele Parameter zeigten aufgrund der geringen Populationsgröße lediglich einen Trend auf, ohne das Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ zu erreichen. Besonders in der Untersuchung von Polymorphismen und deren Häufigkeitsverteilung in dermatologischen Patienten musste, trotz der signifikanten Ergebnisse auf eine vertiefende, statistische Auswertung verzichtet werden. Positiv ist die gesunde Kontrollgruppe mit 384 Probanden zu werten, welche die Genotypen-Verteilung innerhalb der Normalbevölkerung gut repräsentiert. Hierdurch wird die Aussagenkraft der Differenzen zwischen Patienten und Kontrollgruppe verstärkt.

Aus organisatorischen Gründen war es nicht möglich die Blutentnahmen nüchtern abzunehmen. Gerade für Untersuchungen der Cholesterin- und Triglyceride ist dies essentiell. In nachfolgenden Studien bezüglich des Zusammenhangs von Blutfetten und dem 25(OH)D₃-Serumspiegel sollte dies gewährleistet sein. Ebenso wäre es sinnvoll, in weiterführenden Studien mit der Fragestellung nach einem Zusammenhang zwischen Gesundheitsparametern (wie Blutzucker, Entzündungs-, Blutfett- sowie Blutdruckwerten) und Vitamin D, Patienten mit Kortison-Therapie oder anderen intervenierenden Medikamenten (z.B. Cholesterinsenker/Statine) von der Untersuchung auszuschließen.

Viele ältere Studien, die Einflüsse von UV-Therapien auf den 25(OH)D₃-Serumspiegel untersuchten, verwendeten das UVB-Breitspektrum (bUVB). Mit seinem höheren Anteil des kurzwelligen Lichtes (280 – 320 nm) beinhaltet dies auch den maximalen Piek der Vitamin D-Synthese (298 nm). In der vorliegenden Studie wurde jedoch das gut verträgliche und häufig in der Phototherapie verwendete UVB-Schmalspektrum (nUVB, 311 nm) verwendet. Aus diesem Grund sind direkte Vergleiche zu früheren Studien, insbesondere in Bezug auf die Labor- und Blutdruckwerte nur eingeschränkt möglich.

4.12 Aussichten für weiterführende Untersuchungen

Die Ergebnisse der vorgelegten Studie zeigen eine erhöhte Vitamin D-Prävalenz in dermatologischen Patienten verglichen mit der Normalbevölkerung. Um die Hypothese des erhöhten Vitamin D-Mangels unter dermatologischen Patienten sicher zu belegen, müssten a.: entweder ganzjährige 25(OH)D₃-Messungen an dermatologischen Patienten durchgeführt werden oder b.: Messungen der 25(OH)D₃-Serumkonzentrationen an eine gesunden Kontrollgruppe im gleichen Zeitraum (Oktober bis April/Mai) erfolgen.

Der positive Einfluss steigender 25(OH)D₃-Serumspiegel auf die Blutzucker-, Cholesterin- und Entzündungswerte sowie den Blutdruck wurde durch mehrere Autoren beschrieben, konnte in der aktuellen Studie jedoch nicht beobachtet werden. Wie bereits unter Kapitel 4.7 („Zeigt die UVB-Therapie einen positiven Einfluss auf den Blutdruck sowie CRP-, HbA_{1c}- und Blutfettwerte?“) beschrieben, ist möglicherweise das gewählte Patientenkollektiv ursächlich dafür. Eine UV-Therapie stellt aufgrund des erhöhten Karzinomrisikos stets auch ein gesundheitliches Risiko dar, weshalb diese Untersuchung aus ethischer Sicht kaum an einem gesunden Probandenkollektiv durchführbar ist. Eine mögliche Alternative wäre es, den Verlauf der Labor- und Blutdruckwerte an Patienten mit oraler Vitamin D-Supplementation zu untersuchen, z.B. im Rahmen der Osteoporose-Prophylaxe. Könnte man die o.g. positiven Effekte auf Labor- und Blutdruckwerte, sowohl durch orale Substitution als auch UVB-vermittelt bewirken, so würde dies die Annahme unterstützen, die gewünschten Veränderungen seien Vitamin D vermittelt.

Bisher wurden unter anderem das Mamma, Kolon und Prostatakarzinom, Autoimmunerkrankungen wie Diabetes und Herz-Kreislauferkrankungen im Zusammenhang mit Vitamin D-Mangel beschrieben. Die Ergebnisse dieser Forschungsarbeit zeigen eine signifikante Assoziation zwischen verminderten Baseline-25(OH)D₃-Serumspiegeln und Genotypen diverser VDBP-Polymorphismen. Weiterführende Studien müssen nun klären, ob Allel-Träger risikobehafteter Genotypen, tatsächlich eine erhöhte Prävalenz aufweisen, an einer mit Vitamin D-Mangel assoziierten Erkrankung zu leiden.

5 Literaturverzeichnis

- 1 Aarskog D., Aksnes L., Markestad T., Rodland O. (1983). Effect of estrogen on vitamin D metabolism in tall girls. *J Clin Endocrinol Metab*, 57: 1155-8.
- 2 Abbas S., Linseisen J., Slinger T., Kropp S., Mutschelknauss E. J., Flesch-Janys D., Chang-Claude J. (2008). The Gc2 allele of the vitamin D binding protein is associated with a decreased postmenopausal breast cancer risk, independent of the vitamin D status. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17: 1339-43.
- 3 Ahn J., Albanes D., Berndt S. I., Peters U., Chatterjee N., Freedman N. D., Abnet C. C., Huang W. Y., Kibel A. S., Crawford E. D., Weinstein S. J., Chanock S. J., Schatzkin A., Hayes R. B., Prostate L. C., Ovarian Trial Project T. (2009). Vitamin D-related genes, serum vitamin D concentrations and prostate cancer risk. *Carcinogenesis*, 30: 769-76.
- 4 Ahn J., Yu K., Stolzenberg-Solomon R., Simon K. C., McCullough M. L., Gallicchio L., Jacobs E. J., Ascherio A., Helzlsouer K., Jacobs K. B., Li Q., Weinstein S. J., Purdue M., Virtamo J., Horst R., Wheeler W., Chanock S., Hunter D. J., Hayes R. B., Kraft P., Albanes D. (2010). Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet*, 19: 2739-45.
- 5 Ahonen M. H., Tenkanen L., Teppo L., Hakama M., Tuohimaa P. (2000). Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer Causes Control*, 11: 847-52.
- 6 Alvarez J. A., Ashraf A. (2010a). Role of vitamin d in insulin secretion and insulin sensitivity for glucose homeostasis. *Int J Endocrinol*, 2010: 351385.
- 7 Alvarez J. A., Bush N. C., Choquette S. S., Hunter G. R., Darnell B. E., Oster R. A., Gower B. A. (2010b). Vitamin D intake is associated with insulin sensitivity in African American, but not European American, women. *Nutr Metab (Lond)*, 7: 28.
- 8 Amer M., Qayyum R. (2012). Relation between serum 25-hydroxyvitamin D and C-reactive protein in asymptomatic adults (from the continuous National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2006). *Am J Cardiol*, 109: 226-30.
- 9 Aranda A., Pascual A. (2001). Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol Rev*, 81: 1269-304.
- 10 Archier E., Devaux S., Castela E., Gallini A., Aubin F., Le Maitre M., Aractingi S., Bachelez H., Cribier B., Joly P., Jullien D., Misery L., Paul C., Ortonne J. P., Richard M. A. (2012). Carcinogenic risks of psoralen UV-A therapy and narrowband UV-B therapy in chronic plaque psoriasis: a systematic literature review. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 26 Suppl 3: 22-31.
- 11 Arnaud J., Constans J. (1993). Affinity differences for vitamin D metabolites associated with the genetic isoforms of the human serum carrier protein (DBP). *Hum Genet*, 92: 183-8.
- 12 Baker A. R., McDonnell D. P., Hughes M., Crisp T. M., Mangelsdorf D. J., Haussler M. R., Pike J. W., Shine J., O'malley B. W. (1988). Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85: 3294-8.
- 13 Berneburg M., Brod C., Benedix F., Rocken M. (2005a). [New and established indications for phototherapy with narrowband UVB]. *J Dtsch Dermatol Ges*, 3: 874-82.
- 14 Berneburg M., Rocken M., Benedix F. (2005b). Phototherapy with narrowband vs broadband UVB. *Acta Derm Venereol*, 85: 98-108.
- 15 Bikle D. (2009). Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 94: 26-34.
- 16 Bikle D. D., Halloran B. P., Gee E., Ryzen E., Haddad J. G. (1986). Free 25-hydroxyvitamin D levels are normal in subjects with liver disease and reduced total 25-hydroxyvitamin D levels. *J Clin Invest*, 78: 748-52.

- 17 Bikle D. D., Siiteri P. K., Ryzen E., Haddad J. G. (1985). Serum protein binding of 1,25-dihydroxyvitamin D: a reevaluation by direct measurement of free metabolite levels. *J Clin Endocrinol Metab*, 61: 969-75.
- 18 Bischoff-Ferrari H. A. (2007). How to select the doses of vitamin D in the management of osteoporosis. *Osteoporos Int*, 18: 401-7.
- 19 Bischoff-Ferrari H. A., Conzelmann M., Stahelin H. B., Dick W., Carpenter M. G., Adkin A. L., Theiler R., Pfeifer M., Allum J. H. (2006). Is fall prevention by vitamin D mediated by a change in postural or dynamic balance? *Osteoporos Int*, 17: 656-63.
- 20 Bland R., Markovic D., Hills C. E., Hughes S. V., Chan S. L., Squires P. E., Hewison M. (2004). Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase in pancreatic islets. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90: 121-5.
- 21 Blanton D., Han Z., Bierschenk L., Linga-Reddy M. V., Wang H., Clare-Salzler M., Haller M., Schatz D., Myhr C., She J. X., Wasserfall C., Atkinson M. (2011). Reduced serum vitamin D-binding protein levels are associated with type 1 diabetes. *Diabetes*, 60: 2566-70.
- 22 Bogh M. K. (2012). Vitamin D production after UVB: aspects of UV-related and personal factors. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 243: 24-31.
- 23 Bogh M. K., Schmedes A. V., Philipsen P. A., Thieden E., Wulf H. C. (2010). Vitamin D production after UVB exposure depends on baseline vitamin D and total cholesterol but not on skin pigmentation. *J Invest Dermatol*, 130: 546-53.
- 24 Bogh M. K., Schmedes A. V., Philipsen P. A., Thieden E., Wulf H. C. (2011a). Interdependence between body surface area and ultraviolet B dose in vitamin D production: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol*, 164: 163-9.
- 25 Bogh M. K., Schmedes A. V., Philipsen P. A., Thieden E., Wulf H. C. (2011b). Vitamin D production depends on ultraviolet-B dose but not on dose rate: a randomized controlled trial. *Exp Dermatol*, 20: 14-8.
- 26 Bogh M. K., Schmedes A. V., Philipsen P. A., Thieden E., Wulf H. C. (2012). A small suberythemal ultraviolet B dose every second week is sufficient to maintain summer vitamin D levels: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol*, 166: 430-3.
- 27 Bonny C. (2005). [Role of intracellular signalling pathways in the development of type 1 diabetes]. *Rev Med Suisse*, 1: 1153-6.
- 28 Boonen S., Vanderschueren D., Haentjens P., Lips P. (2006). Calcium and vitamin D in the prevention and treatment of osteoporosis - a clinical update. *J Intern Med*, 259: 539-52.
- 29 Boonstra A., Barrat F. J., Crain C., Heath V. L., Savelkoul H. F., O'garra A. (2001). 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol*, 167: 4974-80.
- 30 Borkar V. V., Devidayal, Verma S., Bhalla A. K. (2010). Low levels of vitamin D in North Indian children with newly diagnosed type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*, 11: 345-50.
- 31 Bouillon R., Van Assche F. A., Van Baelen H., Heyns W., De Moor P. (1981). Influence of the vitamin D-binding protein on the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D3. Significance of the free 1,25-dihydroxyvitamin D3 concentration. *J Clin Invest*, 67: 589-96.
- 32 Bouillon R., Van Cromphaut S., Carmeliet G. (2003). Intestinal calcium absorption: Molecular vitamin D mediated mechanisms. *J Cell Biochem*, 88: 332-9.
- 33 Brenza H. L., Kimmel-Jehan C., Jehan F., Shinki T., Wakino S., Anazawa H., Suda T., Deluca H. F. (1998). Parathyroid hormone activation of the 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase gene promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95: 1387-91.
- 34 Broe K. E., Chen T. C., Weinberg J., Bischoff-Ferrari H. A., Holick M. F., Kiel D. P. (2007). A higher dose of vitamin d reduces the risk of falls in nursing home residents: a randomized, multiple-dose study. *J Am Geriatr Soc*, 55: 234-9.
- 35 Bu F. X., Armas L., Lappe J., Zhou Y., Gao G., Wang H. W., Recker R., Zhao L. J. (2010). Comprehensive association analysis of nine candidate genes with serum 25-hydroxy vitamin D levels among healthy Caucasian subjects. *Hum Genet*, 128: 549-56.

- 36 Campbell C., Quinn A. G., Angus B., Farr P. M., Rees J. L. (1993). Wavelength specific patterns of p53 induction in human skin following exposure to UV radiation. *Cancer Res*, 53: 2697-9.
- 37 Cannell J. J., Hollis B. W. (2008). Use of vitamin D in clinical practice. *Altern Med Rev*, 13: 6-20.
- 38 Chapuy M. C., Meunier P. J. (1995a). [Physiopathology and prevention of fractures of the proximal end of the femur]. *Rev Prat*, 45: 1120-3.
- 39 Chapuy M. C., Meunier P. J. (1995b). Prevention and treatment of osteoporosis. *Aging (Milano)*, 7: 164-73.
- 40 Chen K. S., Deluca H. F. (1995). Cloning of the human 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D-3 24-hydroxylase gene promoter and identification of two vitamin D-responsive elements. *Biochim Biophys Acta*, 1263: 1-9.
- 41 Chen T. C., Chimeh F., Lu Z., Mathieu J., Person K. S., Zhang A., Kohn N., Martinello S., Berkowitz R., Holick M. F. (2007). Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. *Arch Biochem Biophys*, 460: 213-7.
- 42 Cheng S., Tylavsky F., Kroger H., Karkkainen M., Lyytikainen A., Koistinen A., Mahonen A., Alen M., Halleen J., Vaananen K., Lamberg-Allardt C. (2003). Association of low 25-hydroxyvitamin D concentrations with elevated parathyroid hormone concentrations and low cortical bone density in early pubertal and prepubertal Finnish girls. *Am J Clin Nutr*, 78: 485-92.
- 43 Chiu K. C., Chu A., Go V. L., Saad M. F. (2004). Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr*, 79: 820-5.
- 44 Christiansen M., Jorgensen C. S., Laursen I., Hirschberg D., Hojrup P., Houen G. (2007). Protein chemical characterization of Gc globulin (vitamin D-binding protein) isoforms; Gc-1f, Gc-1s and Gc-2. *Biochim Biophys Acta*, 1774: 481-92.
- 45 Chung I., Han G., Seshadri M., Gillard B. M., Yu W. D., Foster B. A., Trump D. L., Johnson C. S. (2009). Role of vitamin D receptor in the antiproliferative effects of calcitriol in tumor-derived endothelial cells and tumor angiogenesis in vivo. *Cancer Res*, 69: 967-75.
- 46 Clemens T. L., Adams J. S., Henderson S. L., Holick M. F. (1982). Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet*, 1: 74-6.
- 47 Cleve H., Constans J. (1988). The mutants of the vitamin-D-binding protein: more than 120 variants of the GC/DBP system. *Vox Sang*, 54: 215-25.
- 48 Cooke N. E., David E. V. (1985). Serum vitamin D-binding protein is a third member of the albumin and alpha fetoprotein gene family. *J Clin Invest*, 76: 2420-4.
- 49 Cooke N. E., Haddad J. G. (1989). Vitamin D binding protein (Gc-globulin). *Endocr Rev*, 10: 294-307.
- 50 Dackiw A. P., Ezzat S., Huang P., Liu W., Asa S. L. (2004). Vitamin D3 administration induces nuclear p27 accumulation, restores differentiation, and reduces tumor burden in a mouse model of metastatic follicular thyroid cancer. *Endocrinology*, 145: 5840-6.
- 51 Dahl B. (2005). The extracellular actin scavenger system in trauma and major surgery. Clinical and experimental studies. *Acta Orthop Suppl*, 76: 2 p preceding table of contents-24.
- 52 Dawson-Hughes B., Harris S. S., Krall E. A., Dallal G. E. (1997). Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. *N Engl J Med*, 337: 670-6.
- 53 Dayangac-Erden D., Karaduman A., Erdem-Yurter H. (2007). Polymorphisms of vitamin D receptor gene in Turkish familial psoriasis patients. *Arch Dermatol Res*, 299: 487-91.
- 54 Denzer N., Vogt T., Reichrath J. (2011). Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms and skin cancer: A systematic review. *Dermatoendocrinol*, 3: 205-10.
- 55 Dobnig H., Pilz S., Scharnagl H., Renner W., Seelhorst U., Wellnitz B., Kinkeldei J., Boehm B. O., Weihrauch G., Maerz W. (2008). Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin d and 1,25-dihydroxyvitamin d levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med*, 168: 1340-9.

- 56 Dogra S., Kanwar A. J. (2004). Narrow band UVB phototherapy in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 70: 205-9.
- 57 Dusso A. S., Brown A. J., Slatopolsky E. (2005). Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*, 289: F8-28.
- 58 Ebert R., Schutze N., Adamski J., Jakob F. (2006). Vitamin D signaling is modulated on multiple levels in health and disease. *Mol Cell Endocrinol*, 248: 149-59.
- 59 Eleftheriadis T., Antoniadi G., Liakopoulos V., Stefanidis I., Galaktidou G. (2012). Inverse association of serum 25-hydroxyvitamin D with markers of inflammation and suppression of osteoclastic activity in hemodialysis patients. *Iran J Kidney Dis*, 6: 129-35.
- 60 Engelman C. D., Fingerlin T. E., Langefeld C. D., Hicks P. J., Rich S. S., Wagenknecht L. E., Bowden D. W., Norris J. M. (2008). Genetic and environmental determinants of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab*, 93: 3381-8.
- 61 Fang Y., Van Meurs J. B., Arp P., Van Leeuwen J. P., Hofman A., Pols H. A., Uitterlinden A. G. (2009). Vitamin D binding protein genotype and osteoporosis. *Calcif Tissue Int*, 85: 85-93.
- 62 Faurschou A., Beyer D. M., Schmedes A., Bogh M. K., Philipsen P. A., Wulf H. C. (2012). The relation between sunscreen layer thickness and vitamin D production after ultraviolet B exposure: a randomized clinical trial. *Br J Dermatol*, 167: 391-5.
- 63 Fischer T., Alsins J., Berne B. (1984). Ultraviolet-action spectrum and evaluation of ultraviolet lamps for psoriasis healing. *Int J Dermatol*, 23: 633-7.
- 64 Fleet J. C. (2004). Rapid, membrane-initiated actions of 1,25 dihydroxyvitamin D: what are they and what do they mean? *J Nutr*, 134: 3215-8.
- 65 Flindt-Hansen H., Mcfadden N., Eeg-Larsen T., Thune P. (1991). Effect of a new narrow-band UVB lamp on photocarcinogenesis in mice. *Acta Derm Venereol*, 71: 245-8.
- 66 Flohil S. C., De Vries E., Van Meurs J. B., Fang Y., Stricker B. H., Uitterlinden A. G., Nijsten T. (2010). Vitamin D-binding protein polymorphisms are not associated with development of (multiple) basal cell carcinomas. *Exp Dermatol*, 19: 1103-5.
- 67 Forman J. P., Bischoff-Ferrari H. A., Willett W. C., Stampfer M. J., Curhan G. C. (2005). Vitamin D intake and risk of incident hypertension: results from three large prospective cohort studies. *Hypertension*, 46: 676-82.
- 68 Fraser D. R., Kodicek E. (1970). Unique biosynthesis by kidney of a biological active vitamin D metabolite. *Nature*, 228: 764-6.
- 69 Fritsche J., Mondal K., Ehrnsperger A., Andreesen R., Kreutz M. (2003). Regulation of 25-hydroxyvitamin D3-1 alpha-hydroxylase and production of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 by human dendritic cells. *Blood*, 102: 3314-6.
- 70 Fu L., Yun F., Oczak M., Wong B. Y., Vieth R., Cole D. E. (2009). Common genetic variants of the vitamin D binding protein (DBP) predict differences in response of serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] to vitamin D supplementation. *Clin Biochem*, 42: 1174-7.
- 71 Garland C., Shekelle R. B., Barrett-Connor E., Criqui M. H., Rossof A. H., Paul O. (1985). Dietary vitamin D and calcium and risk of colorectal cancer: a 19-year prospective study in men. *Lancet*, 1: 307-9.
- 72 Garland C. F., Garland F. C. (2006a). Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol*, 35: 217-20.
- 73 Garland C. F., Garland F. C., Gorham E. D., Lipkin M., Newmark H., Mohr S. B., Holick M. F. (2006b). The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health*, 96: 252-61.
- 74 Gibbs N. K., Traynor N. J., Mackie R. M., Campbell I., Johnson B. E., Ferguson J. (1995). The phototumorigenic potential of broad-band (270-350 nm) and narrow-band (311-313 nm) phototherapy sources cannot be predicted by their edematogenic potential in hairless mouse skin. *J Invest Dermatol*, 104: 359-63.
- 75 Gilbert-Diamond D., Baylin A., Mora-Plazas M., Marin C., Arsenault J. E., Hughes M. D., Willett W. C., Villamor E. (2010). Vitamin D deficiency and anthropometric indicators of adiposity in school-age children: a prospective study. *Am J Clin Nutr*, 92: 1446-51.

- 76 Giovannucci E. (2006a). Calcium plus vitamin D and the risk of colorectal cancer. *N Engl J Med*, 354: 2287-8; author reply 2287-8.
- 77 Giovannucci E. (2006b). Commentary: vitamin D and colorectal cancer--twenty-five years later. *Int J Epidemiol*, 35: 222-4.
- 78 Giovannucci E., Liu Y., Rimm E. B., Hollis B. W., Fuchs C. S., Stampfer M. J., Willett W. C. (2006a). Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. *J Natl Cancer Inst*, 98: 451-9.
- 79 Giovannucci E., Liu Y., Willett W. C. (2006b). Cancer incidence and mortality and vitamin D in black and white male health professionals. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 15: 2467-72.
- 80 Godar D. E., Landry R. J., Lucas A. D. (2009). Increased UVA exposures and decreased cutaneous Vitamin D(3) levels may be responsible for the increasing incidence of melanoma. *Med Hypotheses*, 72: 434-43.
- 81 Goldfarb D. S., Corbett A. H., Mason D. A., Harreman M. T., Adam S. A. (2004). Importin alpha: a multipurpose nuclear-transport receptor. *Trends Cell Biol*, 14: 505-14.
- 82 Gordon C. M., Depeter K. C., Feldman H. A., Grace E., Emans S. J. (2004). Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 158: 531-7.
- 83 Gouni-Berthold I., Krone W., Berthold H. K. (2009). Vitamin D and cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol*, 7: 414-22.
- 84 Grant W. B., Garland C. F. (2002). Evidence supporting the role of vitamin D in reducing the risk of cancer. *J Intern Med*, 252: 178-9; author reply 179-80.
- 85 Griffin M. D., Lutz W., Phan V. A., Bachman L. A., Mckean D. J., Kumar R. (2001). Dendritic cell modulation by 1alpha,25 dihydroxyvitamin D3 and its analogs: a vitamin D receptor-dependent pathway that promotes a persistent state of immaturity in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98: 6800-5.
- 86 Griffin M. D., Lutz W. H., Phan V. A., Bachman L. A., Mckean D. J., Kumar R. (2000). Potent inhibition of dendritic cell differentiation and maturation by vitamin D analogs. *Biochem Biophys Res Commun*, 270: 701-8.
- 87 Grimes D. S. (2006). Are statins analogues of vitamin D? *Lancet*, 368: 83-6.
- 88 Gronemeyer H., Moras D. (1995). Nuclear receptors. How to finger DNA. *Nature*, 375: 190-1.
- 89 Haddad J. G. (1995). Plasma vitamin D-binding protein (Gc-globulin): multiple tasks. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 53: 579-82.
- 90 Haddad J. G., Fraser D. R., Lawson D. E. (1981). Vitamin D plasma binding protein. Turnover and fate in the rabbit. *J Clin Invest*, 67: 1550-60.
- 91 Hagenau T., Vest R., Gissel T. N., Poulsen C. S., Erlandsen M., Mosekilde L., Vestergaard P. (2009). Global vitamin D levels in relation to age, gender, skin pigmentation and latitude: an ecologic meta-regression analysis. *Osteoporos Int*, 20: 133-40.
- 92 Haussler M. R., Whitfield G. K., Haussler C. A., Hsieh J. C., Thompson P. D., Selznick S. H., Dominguez C. E., Jurutka P. W. (1998). The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res*, 13: 325-49.
- 93 Hewison M. (2010). Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 39: 365-79, table of contents.
- 94 Hewison M., Burke F., Evans K. N., Lammas D. A., Sansom D. M., Liu P., Modlin R. L., Adams J. S. (2007). Extra-renal 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in human health and disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 103: 316-21.
- 95 Hibler E. A., Hu C., Jurutka P. W., Martinez M. E., Jacobs E. T. (2012). Polymorphic variation in the GC and CASR genes and associations with vitamin D metabolite concentration and metachronous colorectal neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 21: 368-75.
- 96 Hintzpeter B., Mensink G. B., Thierfelder W., Muller M. J., Scheidt-Nave C. (2008a). Vitamin D status and health correlates among German adults. *Eur J Clin Nutr*, 62: 1079-89.
- 97 Hintzpeter B., Scheidt-Nave C., Muller M. J., Schenk L., Mensink G. B. (2008b). Higher prevalence of vitamin D deficiency is associated with immigrant background among children and adolescents in Germany. *J Nutr*, 138: 1482-90.

- 98 Holick M. F. (1981). The cutaneous photosynthesis of previtamin D₃: a unique photoendocrine system. *J Invest Dermatol*, 77: 51-8.
- 99 Holick M. F. (1995). Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr*, 61: 638S-645S.
- 100 Holick M. F. (2004). Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr*, 79: 362-71.
- 101 Holick M. F. (2007a). Optimal vitamin D status for the prevention and treatment of osteoporosis. *Drugs Aging*, 24: 1017-29.
- 102 Holick M. F. (2007b). Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 357: 266-81.
- 103 Holick M. F. (2008). Diabetes and the vitamin d connection. *Curr Diab Rep*, 8: 393-8.
- 104 Holick M. F., Biancuzzo R. M., Chen T. C., Klein E. K., Young A., Bibuld D., Reitz R., Salameh W., Ameri A., Tannenbaum A. D. (2008). Vitamin D₂ is as effective as vitamin D₃ in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 93: 677-81.
- 105 Holick M. F., Chen T. C., Lu Z., Sauter E. (2007). Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *J Bone Miner Res*, 22 Suppl 2: V28-33.
- 106 Holick M. F., Maclaughlin J. A., Doppelt S. H. (1981). Regulation of cutaneous previtamin D₃ photosynthesis in man: skin pigment is not an essential regulator. *Science*, 211: 590-3.
- 107 Holick M. F., Uskokovic M., Henley J. W., Maclaughlin J., Holick S. A., Potts J. T., Jr. (1980). The photoproduction of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ in skin: an approach to the therapy of vitamin-D-resistant syndromes. *N Engl J Med*, 303: 349-54.
- 108 Hollis B. W. (2005). Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *J Nutr*, 135: 317-22.
- 109 Hollis B. W., Wagner C. L. (2004). Vitamin D requirements during lactation: high-dose maternal supplementation as therapy to prevent hypovitaminosis D for both the mother and the nursing infant. *Am J Clin Nutr*, 80: 1752S-8S.
- 110 Horne S. L., Cockcroft D. W., Dosman J. A. (1990). Possible protective effect against chronic obstructive airways disease by the GC2 allele. *Hum Hered*, 40: 173-6.
- 111 Huang N. F., Kurpinski K., Fang Q., Lee R. J., Li S. (2011). Proteomic identification of biomarkers of vascular injury. *Am J Transl Res*, 3: 139-48.
- 112 Huang X. X., Bernerd F., Halliday G. M. (2009). Ultraviolet A within sunlight induces mutations in the epidermal basal layer of engineered human skin. *Am J Pathol*, 174: 1534-43.
- 113 Hypponen E., Laara E., Reunanen A., Jarvelin M. R., Virtanen S. M. (2001). Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*, 358: 1500-3.
- 114 Ishii T., Keicho N., Teramoto S., Azuma A., Kudoh S., Fukuchi Y., Ouchi Y., Matsuse T. (2001). Association of Gc-globulin variation with susceptibility to COPD and diffuse panbronchiolitis. *Eur Respir J*, 18: 753-7.
- 115 Ishimoto G., Kuwata M., Nakajima H. (1979). Group-specific component (Gc) polymorphism in Japanese: an analysis by isoelectric focusing on polyacrylamide gels. *Jinrui Idengaku Zasshi*, 24: 75-83.
- 116 J Linseisen A. B., H Bischoff-Ferrari, B Hintzpeter E. L.-B., J Reichrath, P Stehle, D Volkert G. W., A Zittermann (2011). Stellungnahme: Vitamin D und Prävention ausgewählter chronischer Krankheiten. *Deutschen Gesellschaft für Ernährung e. V. (DGE)*.
- 117 Janssens W., Bouillon R., Claes B., Carremans C., Lehouck A., Buysschaert I., Coolen J., Mathieu C., Decramer M., Lambrechts D. (2010). Vitamin D deficiency is highly prevalent in COPD and correlates with variants in the vitamin D-binding gene. *Thorax*, 65: 215-20.
- 118 Johnson J. A., Grande J. P., Roche P. C., Kumar R. (1994). Immunohistochemical localization of the 1,25(OH)₂D₃ receptor and calbindin D28k in human and rat pancreas. *Am J Physiol*, 267: E356-60.
- 119 Johnson L. K., Hofso D., Aasheim E. T., Tanbo T., Holven K. B., Andersen L. F., Roislien J., Hjelmestaeth J. (2012). Impact of gender on vitamin D deficiency in morbidly obese patients: a cross-sectional study. *Eur J Clin Nutr*, 66: 83-90.

- 120 Jones G. (2008). Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr*, 88: 582S-586S.
- 121 Jorgensen C. S., Christiansen M., Norgaard-Pedersen B., Ostergaard E., Schiødt F. V., Laursen I., Houen G. (2004). Gc globulin (vitamin D-binding protein) levels: an inhibition ELISA assay for determination of the total concentration of Gc globulin in plasma and serum. *Scand J Clin Lab Invest*, 64: 157-66.
- 122 Kamboh M. I., Ferrell R. E. (1986). Ethnic variation in vitamin D-binding protein (GC): a review of isoelectric focusing studies in human populations. *Hum Genet*, 72: 281-93.
- 123 Kawa S., Nikaido T., Aoki Y., Zhai Y., Kumagai T., Furihata K., Fujii S., Kiyosawa K. (1997). Vitamin D analogues up-regulate p21 and p27 during growth inhibition of pancreatic cancer cell lines. *Br J Cancer*, 76: 884-9.
- 124 Kawakami M., Blum C. B., Ramakrishnan R., Dell R. B., Goodman D. S. (1981). Turnover of the plasma binding protein for vitamin D and its metabolites in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 53: 1110-6.
- 125 Kawakami M., Imawari M., Goodman D. S. (1979). Quantitative studies of the interaction of cholecalciferol ((vitamin D₃) and its metabolites with different genetic variants of the serum binding protein for these sterols. *Biochem J*, 179: 413-23.
- 126 Kim S. H., Choi G. S., Nam Y. H., Kim J. H., Hur G. Y., Kim S. H., Park S. M., Park H. S. (2012). Role of vitamin D-binding protein in isocyanate-induced occupational asthma. *Exp Mol Med*, 44: 319-29.
- 127 Kirke S. M., Lowder S., Lloyd J. J., Diffey B. L., Matthews J. N., Farr P. M. (2007). A randomized comparison of selective broadband UVB and narrowband UVB in the treatment of psoriasis. *J Invest Dermatol*, 127: 1641-6.
- 128 Kisker O., Onizuka S., Becker C. M., Fannon M., Flynn E., D'amato R., Zetter B., Folkman J., Ray R., Swamy N., Pirie-Shepherd S. (2003). Vitamin D binding protein-macrophage activating factor (DBP-maf) inhibits angiogenesis and tumor growth in mice. *Neoplasia*, 5: 32-40.
- 129 Kliewer S. A., Umesono K., Mangelsdorf D. J., Evans R. M. (1992). Retinoid X receptor interacts with nuclear receptors in retinoic acid, thyroid hormone and vitamin D₃ signalling. *Nature*, 355: 446-9.
- 130 Kostner K., Denzer N., Muller C. S., Klein R., Tilgen W., Reichrath J. (2009). The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer Res*, 29: 3511-36.
- 131 Krause R., Buhring M., Hopfenmuller W., Holick M. F., Sharma A. M. (1998). Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet*, 352: 709-10.
- 132 Kueppers F., Miller R. D., Gordon H., Hepper N. G., Offord K. (1977). Familial prevalence of chronic obstructive pulmonary disease in a matched pair study. *Am J Med*, 63: 336-42.
- 133 Kumar R., Cohen W. R., Silva P., Epstein F. H. (1979). Elevated 1,25-dihydroxyvitamin D plasma levels in normal human pregnancy and lactation. *J Clin Invest*, 63: 342-4.
- 134 Kunisada M., Kumimoto H., Ishizaki K., Sakumi K., Nakabeppu Y., Nishigori C. (2007). Narrow-band UVB induces more carcinogenic skin tumors than broad-band UVB through the formation of cyclobutane pyrimidine dimer. *J Invest Dermatol*, 127: 2865-71.
- 135 Kurylowicz A., Ramos-Lopez E., Bednarczuk T., Badenhoop K. (2006). Vitamin D-binding protein (DBP) gene polymorphism is associated with Graves' disease and the vitamin D status in a Polish population study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 114: 329-35.
- 136 Lagunova Z., Porojnicu A. C., Grant W. B., Bruland O., Moan J. E. (2010). Obesity and increased risk of cancer: does decrease of serum 25-hydroxyvitamin D level with increasing body mass index explain some of the association? *Mol Nutr Food Res*, 54: 1127-33.
- 137 Lagunova Z., Porojnicu A. C., Lindberg F., Hexeberg S., Moan J. (2009). The dependency of vitamin D status on body mass index, gender, age and season. *Anticancer Res*, 29: 3713-20.
- 138 Langdahl J. H., Schierbeck L. L., Bang U. C., Jensen J. E. (2012). Changes in serum 25-hydroxyvitamin D and cholecalciferol after one whole-body exposure in a commercial tanning bed: a randomized study. *Endocrine*, 42: 430-5.

- 139 Lappe J. M., Travers-Gustafson D., Davies K. M., Recker R. R., Heaney R. P. (2007). Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr*, 85: 1586-91.
- 140 Lauridsen A. L., Vestergaard P., Hermann A. P., Brot C., Heickendorff L., Mosekilde L., Nexø E. (2005). Plasma concentrations of 25-hydroxy-vitamin D and 1,25-dihydroxy-vitamin D are related to the phenotype of Gc (vitamin D-binding protein): a cross-sectional study on 595 early postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*, 77: 15-22.
- 141 Lauridsen A. L., Vestergaard P., Hermann A. P., Møller H. J., Mosekilde L., Nexø E. (2004). Female premenopausal fracture risk is associated with gc phenotype. *J Bone Miner Res*, 19: 875-81.
- 142 Lauridsen A. L., Vestergaard P., Nexø E. (2001). Mean serum concentration of vitamin D-binding protein (Gc globulin) is related to the Gc phenotype in women. *Clin Chem*, 47: 753-6.
- 143 Leandro A. C., Rocha M. A., Cardoso C. S., Bonecini-Almeida M. G. (2009). Genetic polymorphisms in vitamin D receptor, vitamin D-binding protein, Toll-like receptor 2, nitric oxide synthase 2, and interferon-gamma genes and its association with susceptibility to tuberculosis. *Braz J Med Biol Res*, 42: 312-22.
- 144 Lee J. M., Smith J. R., Philipp B. L., Chen T. C., Mathieu J., Holick M. F. (2007). Vitamin D deficiency in a healthy group of mothers and newborn infants. *Clin Pediatr (Phila)*, 46: 42-4.
- 145 Lehmann B., Meurer M. (2003). Extrarenal sites of calcitriol synthesis: the particular role of the skin. *Recent Results Cancer Res*, 164: 135-45.
- 146 Lehmann B., Meurer M. (2010). Vitamin D metabolism. *Dermatol Ther*, 23: 2-12.
- 147 Lemire J. (2000). 1,25-Dihydroxyvitamin D₃--a hormone with immunomodulatory properties. *Z Rheumatol*, 59 Suppl 1: 24-7.
- 148 Lemire J. M., Archer D. C. (1991). 1,25-dihydroxyvitamin D₃ prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest*, 87: 1103-7.
- 149 Levine B. S., Singer F. R., Bryce G. F., Mallon J. P., Miller O. N., Coburn J. W. (1985). Pharmacokinetics and biologic effects of calcitriol in normal humans. *J Lab Clin Med*, 105: 239-46.
- 150 Li Y. C. (2003). Vitamin D regulation of the renin-angiotensin system. *J Cell Biochem*, 88: 327-31.
- 151 Li Y. C., Qiao G., Uskokovic M., Xiang W., Zheng W., Kong J. (2004). Vitamin D: a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90: 387-92.
- 152 Lips P. (2006). Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol*, 92: 4-8.
- 153 Lips P. (2007). Vitamin D status and nutrition in Europe and Asia. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 103: 620-5.
- 154 Liu P. T., Stenger S., Li H., Wenzel L., Tan B. H., Krutzik S. R., Ochoa M. T., Schaubert J., Wu K., Meinken C., Kamen D. L., Wagner M., Bals R., Steinmeyer A., Zugel U., Gallo R. L., Eisenberg D., Hewison M., Hollis B. W., Adams J. S., Bloom B. R., Modlin R. L. (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, 311: 1770-3.
- 155 Lu L., Sheng H., Li H., Gan W., Liu C., Zhu J., Loos R. J., Lin X. (2012). Associations between common variants in GC and DHCR7/NADSYN1 and vitamin D concentration in Chinese Hans. *Hum Genet*, 131: 505-12.
- 156 MacLaughlin J., Holick M. F. (1985). Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D₃. *J Clin Invest*, 76: 1536-8.
- 157 Maddodi N., Jayanthi A., Setaluri V. (2012). Shining Light on Skin Pigmentation: The Darker and the Brighter Side of Effects of UV Radiation(dagger). *Photochem Photobiol*, 88: 1075-82.
- 158 Maestro B., Davila N., Carranza M. C., Calle C. (2003). Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 84: 223-30.
- 159 Maestro B., Molero S., Bajo S., Davila N., Calle C. (2002). Transcriptional activation of the human insulin receptor gene by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Cell Biochem Funct*, 20: 227-32.

- 160 Masuda S., Jones G. (2006). Promise of vitamin D analogues in the treatment of hyperproliferative conditions. *Mol Cancer Ther*, 5: 797-808.
- 161 Mathieu C., Badenhoop K. (2005a). Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. *Trends Endocrinol Metab*, 16: 261-6.
- 162 Mathieu C., Gysemans C., Giuliatti A., Bouillon R. (2005b). Vitamin D and diabetes. *Diabetologia*, 48: 1247-57.
- 163 Mathieu C., Van Etten E., Decallonne B., Guiliatti A., Gysemans C., Bouillon R., Overbergh L. (2004). Vitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ as modulators in the immune system. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90: 449-52.
- 164 Matsuoka L. Y., Wortsman J., Hollis B. W. (1988). Lack of effect of exogenous calcitriol on the cutaneous production of vitamin D₃. *J Clin Endocrinol Metab*, 66: 451-3.
- 165 Matsuoka L. Y., Wortsman J., Hollis B. W. (1990). Use of topical sunscreen for the evaluation of regional synthesis of vitamin D₃. *J Am Acad Dermatol*, 22: 772-5.
- 166 McCullough M. L., Bostick R. M., Mayo T. L. (2009). Vitamin D gene pathway polymorphisms and risk of colorectal, breast, and prostate cancer. *Annu Rev Nutr*, 29: 111-32.
- 167 Meier U., Gressner O., Lammert F., Gressner A. M. (2006). Gc-globulin: roles in response to injury. *Clin Chem*, 52: 1247-53.
- 168 Milde P. (1991). [Vitamin D and the skin: new aspects and perspectives]. *Hautarzt*, 42: 671-6.
- 169 Minghetti P. P., Norman A. W. (1988). 1,25(OH)₂-vitamin D₃ receptors: gene regulation and genetic circuitry. *FASEB J*, 2: 3043-53.
- 170 Monkawa T., Yoshida T., Hayashi M., Saruta T. (2000). Identification of 25-hydroxyvitamin D₃ 1 α -hydroxylase gene expression in macrophages. *Kidney Int*, 58: 559-68.
- 171 Moore D. D., Kato S., Xie W., Mangelsdorf D. J., Schmidt D. R., Xiao R., Kliewer S. A. (2006). International Union of Pharmacology. LXII. The NR1H and NR1I receptors: constitutive androstane receptor, pregnane X receptor, farnesoid X receptor α , farnesoid X receptor β , liver X receptor α , liver X receptor β , and vitamin D receptor. *Pharmacol Rev*, 58: 742-59.
- 172 Murayama A., Takeyama K., Kitanaka S., Kodera Y., Hosoya T., Kato S. (1998). The promoter of the human 25-hydroxyvitamin D₃ 1 α -hydroxylase gene confers positive and negative responsiveness to PTH, calcitonin, and 1 α ,25(OH)₂D₃. *Biochem Biophys Res Commun*, 249: 11-6.
- 173 Nakamura K., Nashimoto M., Endoh K., Yamamoto M. (2000). Vitamin D nutritional status of women living on a solitary island in Japan: A population-based study. *Environ Health Prev Med*, 5: 49-52.
- 174 Nemere I., Safford S. E., Rohe B., Desouza M. M., Farach-Carson M. C. (2004). Identification and characterization of 1,25D₃-membrane-associated rapid response, steroid (1,25D₃-MARRS) binding protein. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90: 281-5.
- 175 Norman A. W. (1998). Sunlight, season, skin pigmentation, vitamin D, and 25-hydroxyvitamin D: integral components of the vitamin D endocrine system. *Am J Clin Nutr*, 67: 1108-10.
- 176 Norman A. W. (2006). Minireview: vitamin D receptor: new assignments for an already busy receptor. *Endocrinology*, 147: 5542-8.
- 177 Norman A. W., Mizwicki M. T., Norman D. P. (2004). Steroid-hormone rapid actions, membrane receptors and a conformational ensemble model. *Nat Rev Drug Discov*, 3: 27-41.
- 178 Ohyama Y., Yamasaki T. (2004). Eight cytochrome P450s catalyze vitamin D metabolism. *Front Biosci*, 9: 3007-18.
- 179 Okita H., Ohtsuka T., Yamakage A., Yamazaki S. (2002). Polymorphism of the vitamin D(3) receptor in patients with psoriasis. *Arch Dermatol Res*, 294: 159-62.
- 180 Osmancevic A., Landin-Wilhelmsen K., Larko O., Mellstrom D., Wennberg A. M., Hulthen L., Krogstad A. L. (2007). UVB therapy increases 25(OH) vitamin D syntheses in postmenopausal women with psoriasis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 23: 172-8.

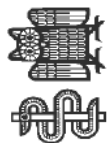
- 181 Osmanovic A., Landin-Wilhelmsen K., Larko O., Mellstrom D., Wennberg A. M., Hulthen L., Krogstad A. L. (2008). Risk factors for osteoporosis and bone status in postmenopausal women with psoriasis treated with UVB therapy. *Acta Derm Venereol*, 88: 240-6.
- 182 Osmanovic A., Nilsen L. T., Landin-Wilhelmsen K., Soyland E., Abusdal Torjesen P., Hagve T. A., Nenseter M. S., Krogstad A. L. (2009). Effect of climate therapy at Gran Canaria on vitamin D production, blood glucose and lipids in patients with psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 23: 1133-40.
- 183 Park B. S., Park J. S., Lee D. Y., Youn J. I., Kim I. G. (1999). Vitamin D receptor polymorphism is associated with psoriasis. *J Invest Dermatol*, 112: 113-6.
- 184 Park W. H., Seol J. G., Kim E. S., Jung C. W., Lee C. C., Binderup L., Koefler H. P., Kim B. K., Lee Y. Y. (2000). Cell cycle arrest induced by the vitamin D(3) analog EB1089 in NCI-H929 myeloma cells is associated with induction of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27. *Exp Cell Res*, 254: 279-86.
- 185 Persson L. J., Aanerud M., Hiemstra P. S., Hardie J. A., Bakke P. S., Eagan T. M. (2012). Chronic obstructive pulmonary disease is associated with low levels of vitamin D. *PLoS One*, 7: e38934.
- 186 Porthouse J., Cockayne S., King C., Saxon L., Steele E., Aspray T., Baverstock M., Birks Y., Dumville J., Francis R., Iglesias C., Puffer S., Sutcliffe A., Watt I., Torgerson D. J. (2005). Randomised controlled trial of calcium and supplementation with cholecalciferol (vitamin D3) for prevention of fractures in primary care. *BMJ*, 330: 1003.
- 187 Poynter J. N., Jacobs E. T., Figueiredo J. C., Lee W. H., Conti D. V., Campbell P. T., Levine A. J., Limburg P., Le Marchand L., Cotterchio M., Newcomb P. A., Potter J. D., Jenkins M. A., Hopper J. L., Duggan D. J., Baron J. A., Haile R. W. (2010). Genetic variation in the vitamin D receptor (VDR) and the vitamin D-binding protein (GC) and risk for colorectal cancer: results from the Colon Cancer Family Registry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 19: 525-36.
- 188 Prosser D. E., Jones G. (2004). Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem Sci*, 29: 664-73.
- 189 Ray R. (1996). Molecular recognition in vitamin D-binding protein. *Proc Soc Exp Biol Med*, 212: 305-12.
- 190 Reichrath J. (2007). Vitamin D and the skin: an ancient friend, revisited. *Exp Dermatol*, 16: 618-25.
- 191 Reichrath J., Rafi L., Rech M., Mitschele T., Meineke V., Gartner B. C., Tilgen W., Holick M. F. (2004). Analysis of the vitamin D system in cutaneous squamous cell carcinomas. *J Cutan Pathol*, 31: 224-31.
- 192 Richard C. L., Farach-Carson M. C., Rohe B., Nemere I., Meckling K. A. (2010). Involvement of 1,25D3-MARRS (membrane associated, rapid response steroid-binding), a novel vitamin D receptor, in growth inhibition of breast cancer cells. *Exp Cell Res*, 316: 695-703.
- 193 Rucevic I., Stefanic M., Tokic S., Vuksic M., Glavas-Obrovac L., Barisic-Drusko V. (2012). Lack of association of vitamin D receptor gene 3'-haplotypes with psoriasis in Croatian patients. *J Dermatol*, 39: 58-62.
- 194 Runger T. M. (2008). C-->T transition mutations are not solely UVB-signature mutations, because they are also generated by UVA. *J Invest Dermatol*, 128: 2138-40.
- 195 Schafer A., Emmert S., Kruppa J., Schubert S., Tzvetkov M., Mossner R., Reich K., Berking C., Volkenandt M., Pfohler C., Schon M. P., Vogt T., Konig I. R., Reichrath J. (2012). No association of vitamin D metabolism-related polymorphisms and melanoma risk as well as melanoma prognosis: a case-control study. *Arch Dermatol Res*, 304: 353-61.
- 196 Schellenberg D., Pare P. D., Weir T. D., Spinelli J. J., Walker B. A., Sandford A. J. (1998). Vitamin D binding protein variants and the risk of COPD. *Am J Respir Crit Care Med*, 157: 957-61.
- 197 Shen H., Bielak L. F., Ferguson J. F., Streeten E. A., Yerges-Armstrong L. M., Liu J., Post W., O'Connell J. R., Hixson J. E., Kardina S. L., Sun Y. V., Jhun M. A., Wang X., Mehta N. N., Li M., Koller D. L., Hakonarson H., Keating B. J., Rader D. J., Shuldiner A. R., Peyser P. A.,

- Reilly M. P., Mitchell B. D. (2010). Association of the vitamin D metabolism gene CYP24A1 with coronary artery calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 30: 2648-54.
- 198 Signorello L. B., Shi J., Cai Q., Zheng W., Williams S. M., Long J., Cohen S. S., Li G., Hollis B. W., Smith J. R., Blot W. J. (2011). Common variation in vitamin D pathway genes predicts circulating 25-hydroxyvitamin D Levels among African Americans. *PLoS One*, 6: e28623.
- 199 Simpson R. U., Thomas G. A., Arnold A. J. (1985). Identification of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors and activities in muscle. *J Biol Chem*, 260: 8882-91.
- 200 Sinotte M., Diorio C., Berube S., Pollak M., Brisson J. (2009). Genetic polymorphisms of the vitamin D binding protein and plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in premenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 89: 634-40.
- 201 Snijder M. B., Lips P., Seidell J. C., Visser M., Deeg D. J., Dekker J. M., Van Dam R. M. (2007). Vitamin D status and parathyroid hormone levels in relation to blood pressure: a population-based study in older men and women. *J Intern Med*, 261: 558-65.
- 202 Song Y. H., Naumova A. K., Liebhaber S. A., Cooke N. E. (1999). Physical and meiotic mapping of the region of human chromosome 4q11-q13 encompassing the vitamin D binding protein DBP/Gc-globulin and albumin multigene cluster. *Genome Res*, 9: 581-7.
- 203 Speeckaert M., Huang G., Delanghe J. R., Taes Y. E. (2006). Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clin Chim Acta*, 372: 33-42.
- 204 Stewart L. V., Weigel N. L. (2004). Vitamin D and prostate cancer. *Exp Biol Med (Maywood)*, 229: 277-84.
- 205 Sullivan S. S., Rosen C. J., Halteman W. A., Chen T. C., Holick M. F. (2005). Adolescent girls in Maine are at risk for vitamin D insufficiency. *J Am Diet Assoc*, 105: 971-4.
- 206 Szpirer J., Szpirer C., Riviere M., Levan G., Marynen P., Cassiman J. J., Wiese R., Deluca H. F. (1991). The Sp1 transcription factor gene (SP1) and the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor gene (VDR) are colocalized on human chromosome arm 12q and rat chromosome 7. *Genomics*, 11: 168-73.
- 207 Tamer G., Mesci B., Tamer I., Kilic D., Arik S. (2012). Is vitamin D deficiency an independent risk factor for obesity and abdominal obesity in women? *Endokrynol Pol*, 63: 196-201.
- 208 Thieden E., Jorgensen H. L., Jorgensen N. R., Philipsen P. A., Wulf H. C. (2008). Sunbed radiation provokes cutaneous vitamin D synthesis in humans--a randomized controlled trial. *Photochem Photobiol*, 84: 1487-92.
- 209 Thomas M. K., Lloyd-Jones D. M., Thadhani R. I., Shaw A. C., Deraska D. J., Kitch B. T., Vamvakas E. C., Dick I. M., Prince R. L., Finkelstein J. S. (1998). Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med*, 338: 777-83.
- 210 Trang H. M., Cole D. E., Rubin L. A., Pierratos A., Siu S., Vieth R. (1998). Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2. *Am J Clin Nutr*, 68: 854-8.
- 211 Vahavihu K., Ala-Houhala M., Peric M., Karisola P., Kautiainen H., Hasan T., Snellman E., Alenius H., Schaubert J., Reunala T. (2010). Narrowband ultraviolet B treatment improves vitamin D balance and alters antimicrobial peptide expression in skin lesions of psoriasis and atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 163: 321-8.
- 212 Van Abel M., Hoenderop J. G., Van Der Kemp A. W., Van Leeuwen J. P., Bindels R. J. (2003). Regulation of the epithelial Ca2+ channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 285: G78-85.
- 213 Vandevijvere S., Amsalkhir S., Van Oyen H., Moreno-Reyes R. (2012). High prevalence of vitamin d deficiency in pregnant women: a national cross-sectional survey. *PLoS One*, 7: e43868.
- 214 Verboven C., Rabijns A., De Maeyer M., Van Baelen H., Bouillon R., De Ranter C. (2002). A structural basis for the unique binding features of the human vitamin D-binding protein. *Nat Struct Biol*, 9: 131-6.
- 215 Vieth R. (1999). Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr*, 69: 842-56.

- 216 Wagner N., Wagner K. D., Schley G., Badiali L., Theres H., Scholz H. (2003). 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced apoptosis of retinoblastoma cells is associated with reciprocal changes of Bcl-2 and bax. *Exp Eye Res*, 77: 1-9.
- 217 Wang T. J., Pencina M. J., Booth S. L., Jacques P. F., Ingelsson E., Lanier K., Benjamin E. J., D'agostino R. B., Wolf M., Vasan R. S. (2008). Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 117: 503-11.
- 218 Webb A. R., Decosta B. R., Holick M. F. (1989). Sunlight regulates the cutaneous production of vitamin D₃ by causing its photodegradation. *J Clin Endocrinol Metab*, 68: 882-7.
- 219 Webb A. R., Kline L., Holick M. F. (1988). Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D₃: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D₃ synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab*, 67: 373-8.
- 220 White P., Cooke N. (2000). The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends Endocrinol Metab*, 11: 320-7.
- 221 Wortsman J., Matsuoka L. Y., Chen T. C., Lu Z., Holick M. F. (2000). Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*, 72: 690-3.
- 222 Wu B. T., Dyer R. A., King D. J., Innis S. M. (2012). Low fish intake is associated with low blood concentrations of vitamin D, choline and n-3 DHA in pregnant women. *Br J Nutr*: 1-8.
- 223 Wu W., Beilhartz G., Roy Y., Richard C. L., Curtin M., Brown L., Cadieux D., Coppolino M., Farach-Carson M. C., Nemere I., Meckling K. A. (2010). Nuclear translocation of the 1,25D₃-MARRS (membrane associated rapid response to steroids) receptor protein and NFkappaB in differentiating NB4 leukemia cells. *Exp Cell Res*, 316: 1101-8.
- 224 Wulf H. C., Hansen A. B., Bech-Thomsen N. (1994). Differences in narrow-band ultraviolet B and broad-spectrum ultraviolet photocarcinogenesis in lightly pigmented hairless mice. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 10: 192-7.
- 225 Yamamoto N., Kumashiro R. (1993). Conversion of vitamin D₃ binding protein (group-specific component) to a macrophage activating factor by the stepwise action of beta-galactosidase of B cells and sialidase of T cells. *J Immunol*, 151: 2794-802.
- 226 Yamamoto N., Naraparaju V. R. (1996). Role of vitamin D₃-binding protein in activation of mouse macrophages. *J Immunol*, 157: 1744-9.
- 227 Zhang J., Kew R. R. (2004). Identification of a region in the vitamin D-binding protein that mediates its C5a chemotactic cofactor function. *J Biol Chem*, 279: 53282-7.
- 228 Zittermann A. (2006). Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol*, 92: 39-48.
- 229 Zittermann A. (2010). The estimated benefits of vitamin D for Germany. *Mol Nutr Food Res*, 54: 1164-71.
- 230 Zuel-Fakkar N. M., Kamel M. M., Asaad M. K., Mahran M. Z., Shehab A. A. (2011). A study of ApaI and TaqI genotypes of the vitamin D receptor in Egyptian patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol*, 36: 355-9.

6 Anhang

6.1 Patienten-Information und Einverständniserklärung



UNIVERSITÄTSAARLAND

Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie

Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Vogt

Probandeninformation zur Erlangung der Einwilligung in die wissenschaftliche Verwendung von Blut sowie Laborparameter

Titel des geplanten Forschungsvorhabens:

„Einfluss unterschiedlicher UV-Bestrahlungssysteme auf den 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel und andere Gesundheitsparameter“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

neue wissenschaftliche Erkenntnisse sprechen dafür, dass ein hoher Vitamin D Spiegel (25-Hydroxyvitamin D3) im Blut positive Effekte auf verschiedene Gesundheitsparameter hat. Darunter zählen unter anderem Blutdruck, Blutzuckerwerte, Entzündungsparameter und Cholesterinspiegel im Blut. Es ist bekannt, dass die verschiedenen Anteile des UV-Lichtes (UVA und UVB) unterschiedlichen Einfluss auf die Bildung von Vitamin D in der Haut haben. Neue wissenschaftliche Erkenntnisse sprechen auch dafür, dass verschiedene, in der Bevölkerung natürlich vorkommende Varianten (Polymorphismen) des Gens für das Transportprotein von Vitamin D im Serum (so genanntes Vitamin-D-bindendes Protein) starken Einfluss auf die Höhe des Anstiegs des 25-Hydroxyvitamin D Serumspiegels nach UV-B-Bestrahlung haben. Sie befinden sich derzeit in Behandlung in der Universitäts-Hautklinik Homburg und erhalten eine speziell auf Ihr Krankheitsbild ausgerichtete UV-Lichttherapie. Sie können als Patient das bestehende Forschungsprojekt aktiv unterstützen. Ihre speziell auf Sie abgestimmte Lichttherapie wird durch unser Forschungsprojekt weder verändert noch beeinflusst. Neben dem Nutzen für die Allgemeinheit ist für Sie mit keinem zusätzlichen individuellen Nutzen zu rechnen. Die Teilnahme an dem wissenschaftlichen Vorhaben ist für Sie, neben eventuell erforderlichen zusätzlichen Blutentnahmen, um die oben genannten Laborparameter zu analysieren, mit keinen zusätzlichen Belastungen oder Risiken verbunden. Die Blutentnahmen werden soweit als möglich im Rahmen der regulären Blutentnahmen Ihrer Behandlung erfolgen. Zur Durchführung der oben genannten Polymorphismusuntersuchung wird Ihnen einmalig ein 10 ml-Röhrchen Vollblut für die molekulargenetische Untersuchung abgenommen. Darüber hinaus möchten wir Sie lediglich darum bitten, dass wir einmal wöchentlich 10 min nach Ihrer Lichttherapie eine Blutdruckmessung durchführen können. Von den Ergebnissen des Forschungsvorhabens erwarten wir uns wichtige neue Erkenntnisse über die Einflüsse von UVA- und UVB-Licht, sowie den Genvarianten des Vitamin D-bindenden Proteins auf den Vitamin D Serumspiegel. Wir möchten darüber hinaus mögliche Zusammenhänge zwischen oben genannten Gesundheitsparametern (Blutdruck, Blutzucker, Entzündungsparameter sowie Cholesterinwerte) und dem Vitamin D Spiegel untersuchen. Die Ergebnisse werden anschließend statistisch ausgewertet. Alle Untersuchungen werden in unserer Klinik durchgeführt und sollen bis 03/2011 abgeschlossen sein. Eine Information an weiterbehandelnde Ärzte oder eine kommerzielle Verwertung der Daten wird nicht erfolgen.

Die Teilnahme an dem genannten Forschungsvorhaben erfolgt:

- freiwillig
- pseudonym (Identifikationsmerkmale wie Name und Anschrift sind durch ein Kennzeichen - z.B. eine Codenummer - ersetzt, so daß eine Zuordnung zu einer bestimmten Person nur über weitere Hilfsmittel - etwa eine Referenzliste - möglich ist).
- kostenlos
- Rücktritt jederzeit möglich (bei Rücktritt wird das für das Forschungsprojekt verwendete Material gemäß den gesetzlichen Bestimmungen entsorgt, alle erhobenen Daten werden gelöscht).

Mit der Teilnahme gestatten Sie eine elektronische Datenerfassung der projektbezogenen Informationen, den Austausch dieser Daten im Rahmen wissenschaftlicher Kooperation und gegebenenfalls eine Veröffentlichung in wissenschaftlichen Publikationsorganen. Der Umgang mit patientenbezogenen Daten erfolgt in jedem Fall pseudonymisiert.

Einverständniserklärung

Ich erkläre mich mit der Verwendung einer Blutprobe zu den obigen Bedingungen und für die Teilnahme an dem o.g. Forschungsvorhaben einverstanden.

Datum:

Name des Probanden

Unterschrift des Probanden

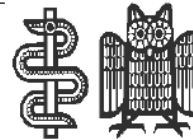
Unterschrift des Arztes

6.2 Datenschutzerklärung

UNIVERSITÄTSKLINIKUM DES SAARLANDES

Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie

Direktor: Prof. Dr. med. T. Vogt



Datenschutzerklärung für das Forschungsvorhaben mit dem Titel:

„Einfluss unterschiedlicher UV-Bestrahlungssysteme auf den 25-Hydroxyvitamin D-Serumspiegel und andere Gesundheitsparameter“

Mir ist bekannt, dass bei diesem Forschungsvorhaben personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde, über mich erhoben, gespeichert und ausgewertet werden sollen. Die Verwendung der Angaben über meine Gesundheit erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor der Teilnahme an dem Forschungsvorhaben folgende freiwillig abgegebene Einwilligungserklärung voraus, d.h. ohne die nachfolgende Einwilligung kann ich nicht an dem Forschungsvorhaben teilnehmen.

Einwilligungserklärung zum Datenschutz

- 1) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieses Forschungsvorhabens erhobene Daten, insbesondere Angaben über meine Gesundheit, in Papierform und auf elektronischen Datenträgern in unserer Klinik aufgezeichnet werden. Soweit erforderlich, dürfen die erhobenen Daten pseudonymisiert (verschlüsselt) an Kooperationspartner zum Zwecke der wissenschaftlichen Auswertung weitergegeben werden.
- 2) Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass die zuständigen inländischen und ausländischen Überwachungsbehörden in meine beim Prüfarzt vorhandenen personenbezogenen Daten, insbesondere meine Gesundheitsdaten, Einsicht nehmen, soweit dies für die Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung des Forschungsvorhabens notwendig ist. Für diese Maßnahme entbinde ich den Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht.
- 3) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Daten nach Beendigung oder Abbruch des Forschungsvorhabens mindestens zehn Jahre aufbewahrt werden. Danach werden meine personenbezogenen Daten gelöscht, soweit nicht gesetzliche oder satzungsmäßige Aufbewahrungsfristen entgegenstehen.
- 5) Ich bin über folgende gesetzliche Regelung informiert: Falls ich meine Einwilligung, an der Studie teilzunehmen, widerrufe, müssen alle Stellen, die meine personenbezogenen Daten, insbesondere Gesundheitsdaten gespeichert haben, unverzüglich prüfen, inwieweit die gespeicherten Daten für die oben genannten Zwecke noch erforderlich sind. Nicht mehr benötigte Daten sind unverzüglich zu löschen.

Name, Datum, Unterschrift

6.3 Patientenfragebogen

- 1 -

Anonymer Patientenfragebogen zur Sonnenlichtexposition

1. Personendaten:

Name des Patienten:

Geburtsdatum:

☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ (Tag/Monat/Jahr)

Geschlecht:

 männlich (1)
 weiblich (2)

Größe: _____ cm

Gewicht: _____ kg

2. Pigmentierungsmerkmale:

Augenfarbe:

 blau-grau (1)
 grün-braunmeliert (2)
 braun (3)

Haarfarbe im Alter von 20 Jahren:

 rot-blond (1)
 hellblond-dunkelblond (2)
 braun (brünett) (3)
 schwarz (4)

Hautpigmentierung:

 (nicht sonnenlichtexponierte Areale)
 weiß (1)
 leichte Pigmentierung (2)
 deutliche Pigmentierung (3)

3. Beruf

Welchen Beruf haben Sie erlernt?

Welchen Beruf haben Sie am längsten ausgeübt? _____

Haben Sie Arbeiten im Freien durchgeführt?

 fast immer (1)
 gelegentlich (2)
 nie (3)

 Haben Sie sich während der Arbeit bei
 Sonnenschein mit unbedeckten Körperpartien
 (Oberkörper, Beine etc.) der Sonne ausgesetzt?

☐ ja (1)
☐ nein (2)

- 2 -

Wenn ja: etwa wieviel Jahre lang? ☐ ☐

4. Sonne in der Freizeit

Einstellung zur Sonne

Wie war bisher Ihre Einstellung zur Sonnenbestrahlung Ihres Körpers? (bitte die am ehesten zutreffende Möglichkeit ankreuzen)

- ☐ - Ich liebe die Sonne und habe mich so oft wie möglich ins Sonnenlicht gelegt (1)
- ☐ - Ich schätze die Sonne und lege mich gerne, aber in Maßen ins Sonnenlicht (2)
- ☐ - Ich melde allzu viel Sonnenbestrahlung, da ich Sonnenlicht nicht gut vertrage oder nicht schätze (3)
- ☐ - Ich melde Sonnenbestrahlung, da ich sie für gefährlich für meine Haut halte (4)

Sonnenreaktion

Wie reagiert Ihre Haut, wenn Sie sich erstmals im Jahr (z.B. im Juni) in Deutschland in die Sonne legen (eine Stunde oder länger)? ☐

- ☐ - nie Bräunung, immer Sonnenbrand (1)
- ☐ - keine Bräunung, meist Sonnenbrand (2)
- ☐ - meist Bräunung, selten Sonnenbrand (3)
- ☐ - immer Bräunung, nie Sonnenbrand (4)

Der Grad Ihrer Bräunung war in den letzten 2 Jahren (am ehesten zutreffende Möglichkeit)

- | | | | |
|-----------|-----|-----------|-----|
| im Sommer | und | im Winter | |
| - tief | und | - mittel | (1) |
| - mittel | und | - mild | (2) |
| - mild | und | - kaum | (3) |
| | | | (4) |

Art und Dauer der Sonnenbestrahlung

Haben Sie sich in den letzten 2 Jahren der Sonne mit freien Körperpartien ausgesetzt?

- ☐ - kaum oder gar nicht: ja (1) nein (2)

- zu Hause (Garten, Veranda usw.): ☐wenn ja: wieviele Tage in 2 Jahren? ☐- sportliche Aktivitäten in der Heimat (Wassersport usw.) ☐wenn ja: wieviele Tage in 2 Jahren? ☐

- 3 -

- Strandurlaube
(Mittelmeer und Subtropen oder Tropen) ja (1) ☐ nein (2) ☐

wenn ja: wieviel Tage in 2 Jahren? ☐

- Andere Urlaube mit viel
Sonnenbestrahlung? ja (1) ☐ nein (2) ☐

wenn ja: wieviel Tage in 2 Jahren? ☐

Wie viele Tage haben Sie sich insgesamt in den
letzten 2 Jahren der Sonne ausgesetzt? ☐

Solarium

Besuchten Sie in den letzten 5 Jahren ein Solarium? ☐

regelmäßig (1)
gelegentlich (2)
nie (3)

Wenn ja: wie oft durchschnittlich im Monat? ☐

Wenn ja: wie oft schätzungsweise insgesamt
bisher lebenslang? ☐

Sonnenbrände

Haben Sie jemals einen schmerzhaften Sonnenbrand über 2 Tage oder länger gehabt? ☐

keinen (1)
1mal (2)
2-4mal (3)
5-10mal (4)
mehr als 10mal (5)
weiß nicht (6)

An wie viele Sonnenbrände mit nachfolgender Schälung der Haut erinnern Sie sich in
den letzten 5 Jahren? ☐

keinen (1)
1mal (2)
2-4mal (3)
5-10mal (4)
mehr als 10mal (5)
weiß nicht (6)

- 4 -

Wieviel Sonnenbrände mit nachfolgender Schälung der Haut hatten Sie nach
Vollendung Ihres 20. Lebensjahres? ☐

keinen (1)
1mal (2)
2-4mal (3)
5-10mal (4)
mehr als 10mal (5)
weiß nicht (6)
bin noch nicht 20 Jahre alt (7)

Wieviel Sonnenbrände mit nachfolgender Schälung der Haut hatten Sie vor
Vollendung Ihres 20. Lebensjahres? ☐

keinen (1)
1mal (2)
2-4mal (3)
5-10mal (4)
mehr als 10mal (5)
weiß nicht (6)

Sonnenschutzmittel

Verwenden Sie Sonnenschutzmittel? ☐

ja, regelmäßig (1)
ja, gelegentlich (2)
nein (3)

Wenn ja: hauptsächlich aus welchem Grund?
zur besseren Bräunung (1)
zum Schutz vor Sonnenbrand (2)
zum Schutz vor langfristigen Hautschäden (3) ☐

Wenn ja: wie viele Jahre schon?
weniger als 1 Jahr (1)
1-10 Jahre (2)
mehr als 10 Jahre (3) ☐

Wenn ja: wie oft pro Sonnenbad?
einmal (1)
mehrfach (2) ☐

Wenn ja: welchen Lichtschutzfaktor haben Sie am häufigsten gewählt?
2-4 (1)
5-10 (2)
größer als 10 (3)
weiß nicht (4) ☐

- 5 -

Wenn ja: welche Art von Präparaten haben Sie am häufigsten benutzt?

☐

- Creme (1)
Milch (2)
Gel (3)
Öl (4)
Sonstiges (5)
weiß nicht (6)

Vitaminpräparate

Nehmen Sie oder haben Sie in den letzten Jahren regelmäßig Vitaminpräparate oder Nahrungsergänzungsmittel (Bsp.: Kalzium, Magnesium, Zink etc. Jeingegenommen?

Wenn Ja welche: _____

- Wenn Ja, wie oft: 1x täglich ☐
2-4 x /Woche ☐
1x /Woche ☐
1x /Monat ☐

Ernährung

- Wie oft essen Sie Fisch: 1x täglich ☐
2-4 x /Woche ☐
1x /Woche ☐
1x / 2-3Wo ☐
1x /Monat ☐

Sind Sie Vegetarier: ☐ nein

☐ ja

Erkrankungen

Leiden Sie an Diabetes mellitus Typ 1 oder 2?

☐ nein

☐ ja

Wenn ja, welcher Typ von Diabetes mellitus?

☐ Typ 1

☐ Typ 2

Wenn ja, sind sie Insulinpflichtig?

☐ nein

☐ ja

- 6 -

Wenn ja, wann ist der Diabetes mellitus erstmals aufgetreten bzw. diagnostiziert worden?

Im Alter von ☐ 1-10 Jahren

☐ 10-20 Jahren

☐ 20-30 Jahren

☐ 30-40 Jahren

☐ 40-50 Jahren

☐ 50-60 Jahren

☐ 60-70 Jahren

☐ 70-80 Jahren

☐ 80-90 Jahren

Leiden Sie an Bluthochdruck?

☐ nein

☐ ja

Wenn ja, wann ist der Bluthochdruck erstmals aufgetreten bzw. diagnostiziert worden?

Im Alter von ☐ 1-10 Jahren

☐ 10-20 Jahren

☐ 20-30 Jahren

☐ 30-40 Jahren

☐ 40-50 Jahren

☐ 50-60 Jahren

☐ 60-70 Jahren

☐ 70-80 Jahren

☐ 80-90 Jahren

Hatten Sie schon mal einen Herzinfarkt?

☐ nein

☐ ja

Wenn ja, wann hat dieser stattgefunden?

☐ im letzten Jahr

☐ vor ca. 1 Jahr

- 7 -

- ☐ vor ca. 2 Jahren
- ☐ vor ca. 5 Jahren
- ☐ vor ca. 10 Jahren
- ☐ vor mehr als 10 Jahren

Haben oder hatten Sie schon einmal Durchblutungsbeschwerden an den Herzkranzgefäßen, die mit massives Engegefühl in der Brust (Angina pectoris Anfällen) einher gehen??

- ☐ nein
- ☐ ja

Wenn ja, wann haben diese stattgefunden?

- ☐ im letzten Jahr
- ☐ vor ca. 1 Jahr
- ☐ vor ca. 2 Jahren
- ☐ vor ca. 5 Jahren
- ☐ vor ca. 10 Jahren
- ☐ vor mehr als 10 Jahren

Leiden Sie an irgendeiner Art von Herzschwäche?

- ☐ nein
- ☐ ja

Wenn ja, wie lange schon?

- ☐ im letzten Jahr
- ☐ seit ca. 1 Jahr
- ☐ seit ca. 2 Jahren
- ☐ seit ca. 5 Jahren
- ☐ seit ca. 10 Jahren
- ☐ seit mehr als 10 Jahren

Hatten Sie jemals in ihrem Leben einen der folgenden Brüche, wenn ja kreuzen sie diesen bitte an?

- ☐ Wirbelkörpereintrich
- ☐ Oberschenkelknochenbruch/Oberschenkelhalsbruch

- 8 -

- ☐ Handgelenks- nahe Unterarmbruch (Elle oder Speiche)
- ☐ Oberarmkopfbruch
- ☐ Beckenbruch
- ☐ nein, ich hatte bisher keinen der genannten Knochenbrüche.
- ☐ nein, ich hatte bisher nicht einen Knochenbruch

Wenn ja, wann haben diese stattgefunden?

- ☐ im letzten Jahr
- ☐ vor ca. 1 Jahr
- ☐ vor ca. 2 Jahren
- ☐ vor ca. 5 Jahren
- ☐ vor ca. 10 Jahren
- ☐ vor mehr als 10 Jahren

Leiden Sie an irgendeiner Art von Krebserkrankungen?

- ☐ nein
- ☐ ja

Wenn ja, welche?

- ☐ Blut- oder Lymphknotenkrebs (Leukämie o Lymphome)
- ☐ Darmkrebs (Colon- Carzinom)
- ☐ Brustkrebs (Mamma- Carzinom)
- ☐ Prostatakrebs
- ☐ Bauchspeicheldrüsenkrebs (Pankreas- Carzinom)
- ☐ Eierstock- Krebs (Ovarial- Carzinom)

Wenn ja, wie lange schon?

- ☐ im letzten Jahr
- ☐ seit ca. 1 Jahr
- ☐ seit ca. 2 Jahren
- ☐ seit ca. 5 Jahren
- ☐ seit ca. 10 Jahren
- ☐ seit mehr als 10 Jahren

- 9 -

Nehmen Sie derzeit eines der folgenden Medikamente ein?

- ☐ β -Blocker (gegen Bluthochdruck)
- ☐ ACE-Hemmer (gegen Bluthochdruck)
- ☐ Diuretika (Wassertabletten)
- ☐ ASS (Blutverdünner)
- ☐ Glukokortikoide (Entzündungshemmer)
- ☐ Lithiumpräparate (bei Depressionen)

Ich nehme regelmäßig andere Präparate ein, und zwar folgende:

Vielen lieben Dank, dass Sie sich die Zeit genommen haben unseren Fragebogen auszufüllen!!!

7 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt:

Meiner Familie und Freunden, insbesondere meinen Eltern, die mich stets unterstützten und mir die nötige Kraft und Rückhalt gaben, das Studium, die Dissertation sowie manch andere Hürde im Leben zu meistern.

Für das Zustandekommen dieser Arbeit an der Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes möchte ich mich recht herzlich bedanken bei

Herrn Univ.- Prof. Dr. med. Thomas Vogt, Direktor der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie am Universitätsklinikum des Saarlandes und Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes, für die vertrauensvolle Unterstützung, und für die Bereitstellung der finanziellen Mittel zur Durchführung dieser Arbeit.

Meinem Doktorvater, wissenschaftlichen Betreuer und Laborleiter Herrn Prof. Dr. med. Jörg Reichrath, danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, sowie sein Engagement und die beharrliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit. Er stand mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite und ermöglichte mir auch persönliche Interessen in die Arbeit einfließen zu lassen. Die wertvollen Diskussionen und Anregungen haben mich all die Jahre konstruktiv begleitet und ganz wesentlich zur erfolgreichen Fertigstellung der Arbeit beigetragen.

Dem José Carreras Research Center, unter Leitung von Prof. Dr. Ulrich Mahlknecht danke ich für die Bereitstellung der Kontrollgruppen-DNA. Insbesondere herzlichen Dank an Herrn Dr. Christian-Lars Dransfeld, Post-Doc und Laborleiter, für die ersten Einführungen in das TaqMan-Genotypisierungssystem.

Des Weiteren danke ich Frau Prof. Dr. Rima Obeid, vom Institut der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin am Universitätsklinikum des Saarlandes, ganz herzlich für die so freundschaftliche Unterstützung und Zusammenarbeit. Ihre unermüdliche Hilfe bei der statistischen Auswertung und ihre stets positive Motivation haben mich, gerade in schwierigen Phasen der Arbeit, immer wieder ermuntert die Studie erfolgreich abzuschließen.

Danksagung

Auch Dagmar Hennes, aus der Abteilung für Balneo- und Phototherapie an der Klinik für Dermatologie, möchte ich für die Durchführung der UV-Therapie, für ihre so freundliche Unterstützung und die kontinuierliche Bereitschaft, einen Großteil der Blutdruckmessungen und Blutentnahmen durchzuführen, recht herzlich danken. Weiterhin Charlotte Müller die mich, als damalige PJ-lerin der Klinik für Dermatologie unterstützte, geeignete Patienten zu rekrutieren, Sonnenfragebogen zu verteilen und einen Teil der Patienten-Aufklärungsgespräche durchführte.

Susanne Stucky und Barbara Schumacher vom Fotolabor der Klinik für Dermatologie für die Aufnahme und Digitalisierung der Patientenfotos.

Ebenfalls meinen jahrelangen Arbeitskollegen aus dem Forschungs- und Routinelabor der Klinik für Dermatologie. Ihr habt mich stets unterstützt das Studium, die studienbegleitende Arbeit im Labor und die Dissertation durchzustehen und mir so manchen Arbeitsgriff abgenommen, während ich in Vorlesungen saß. Anne Kerner, Heike Palm, Alexandra Stark und Sonja Dauskardt vielen lieben Dank dafür, und alle die schönen Jahre im Keller der Hautklinik.

Abschließend möchte ich mich bei allen anderen bedanken, die mir bei der Durchführung und Abschluss der Arbeit eine große Hilfe waren, unter anderem meinem Bruder Steffen und Maria, Katja Schuster, Carsten Berndt sowie meiner Tante Antje für das Korrekturlesen der Arbeit. Herzlichen Dank Euch allen!